

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DEISE AMARAL

**ANATOQUÍMICA DE NÓS DE *Pinus elliottii* var. *elliottii***

CURITIBA

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DEISE AMARAL

**ANATOQUÍMICA DE NÓS DE *Pinus elliottii* var. *elliottii***

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, do Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências Florestais.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Graciela Ines Bolzon de Muniz  
Co-Orientador: Prof. Dr. Heber dos Santos Abreu

CURITIBA  
2014

Biblioteca de Ciências Florestais e da Madeira - UFPR

Ficha catalográfica elaborada por Denis Uezu – CRB 1720/PR

Amaral, Deise

Anatoquímica de nós de *Pinus elliottii* var. *elliottii* / Deise Amaral. – 2014  
153 f. : il.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Graciela Ines Bolzon de Muniz

Coorientador: Prof. Dr. Heber dos Santos Abreu

Tese (doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal. Defesa: Curitiba, 13/10/2014.

Área de concentração: Tecnologia e Utilização de Produtos Florestais

1. Madeira - Anatomia. 2. Madeira - Química. 3. Madeira – Defeitos. 4. *Pinus elliottii*. 5. Teses. I. Muniz, Graciela Ines Bolzon de. II. Abreu, Heber dos Santos. III. Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias. IV. Título.

CDD – 634.9

CDU – 634.0.811



Universidade Federal do Paraná  
Setor de Ciências Agrárias - Centro de Ciências Florestais e da Madeira  
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal

**PARECER**

Defesa nº. 1061


A banca examinadora, instituída pelo colegiado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, do Setor de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Paraná, após arguir o(a) doutorando(a) *Deise Amaral de Deus* em relação ao seu trabalho de tese intitulado "**ANATOQUÍMICA DE NÓS DE *Pinus elliottii* var. *elliottii***", é de parecer favorável à **APROVAÇÃO** do(a) acadêmico(a), habilitando-o(a) ao título de *Doutor* em Engenharia Florestal, área de concentração em **TECNOLOGIA E UTILIZAÇÃO DE PRODUTOS FLORESTAIS**.

  
**Dr. Heber dos Santos Abreu**


Universidade Federal do Rural Rio de Janeiro  
Primeiro examinador


  
**Dr. Claudia Franca Barros**

Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do RJ  
Segundo examinador


  
**Dr. Mayara Elita Carneiro**  
Universidade Federal do Paraná  
Terceiro examinador



  
**Dr. Jorge Luis Monteiro de Matos**  
Universidade Federal do Paraná  
Quarto examinador

  
**Dr. Graciela Ines Bolzon de Muniz**  
Universidade Federal do Paraná  
Orientadora e presidente da banca examinadora

Curitiba, 13 de outubro de 2014.

  
**Antonio Carlos Batista**  
Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal

À Lúcia e Satoshi Yokota,  
por terem me dado a chance de  
reescrever minha história.

Dedido.

## **AGRADECIMENTOS**

A minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Graciela Ines Bolzon de Muniz, a quem serei eternamente grata por tudo. Pela paciência, orientação, pelo amor sempre demonstrado e principalmente por ter acreditado que seria possível, fazendo com que eu nunca desistisse.

A Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Claudia Franca Barros por todo carinho e ajuda do Laboratório de Botânica Estrutural do Instituto de Pesquisas do Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Silvana Nisgoski, pelo apoio e ajuda com correções e redação.

Ao Prof. Dr. Waderley de Souza e a técnica Rachel Rachid do Laboratório de Ultraestrutura Celular e Biofísica hertha meyer da Universidade Federal Do Rio de Janeiro pela ajuda com coleta de imagens.

Aos Professores Ricardo Vieira e Alessandra Castellan, do Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal do Rio de Janeiro pela orientação com anatomia.

A Prof<sup>a</sup>. Denise Klein da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, pela ajuda com a coleta de imagens.

Ao Laboratório de Química da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pela realização dos testes histoquímicos.

Ao Laboratório de Química e Biotecnologia da Madeira do Instituto de Florestas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pela realização de análises.

A secretaria da Pós Graduação, em especial ao Reinaldo Mendes de Souza pelo apoio e ajuda junto ao colegiado.

A Vinícius Cadete Bernardes, que sempre prontamente me auxiliou e a quem devo eterno agradecimento por ter sido por tantas vezes, meus olhos, braços e pulmões na realização deste trabalho.

Ao meu querido Irmão Rone Amaral, que nunca mediu distância para vir ao meu socorro e que, por tantas vezes me trouxe alento e paz.

A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Helena Regina Pinto Lima, anjo de luz, que mesmo longe, me iluminou o caminho.

Ao Prof. Heber dos Santos Abreu pela orientação e exemplo profissional que representa.

Aos técnicos Rogério, Elaine Zózimo, e Felipe do Laboratório de Botânica Estrutural do Instituto de Pesquisas do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, que muito além de auxílio técnico, permitiram a ampliação do meu conhecimento.

A Monique pela disponibilidade incondicional, pela amizade e por toda ajuda com mensurações e programas de análise.

A Thais Gonçalves, pela força nos momentos mais difíceis, pela amizade e carinho.

Ao Prof. Dr. Jorge Luis Monteiro de Matos pelo apoio junto ao programa de Pós Graduação, sem o qual não conseguiria realizar tão almejado sonho.

A minha família, Pedro e Maria Nogueira Scarambone Zaú, Ignêz Ivone Scarambone Zaú, Monique Zaú pelo apoio irrestrito.

Ao amor de minha alma André Scarambone Zaú.

## RESUMO

Os nós são considerados um dos defeitos mais prejudiciais a aplicação da madeira. Sua ocorrência é inerente a cada espécie, fazendo parte da fisiologia natural da árvore, mas, em espécies florestais de interesse econômico, são considerados prejudiciais por reduzir o valor comercial de peças de madeira. Pela sua influência nas propriedades tecnológicas da madeira, mercados de comercialização de produtos florestais elaboram normas de classificação específicas e institutos de pesquisas viabilizam estudos com intuito de avaliar sua interferência, minimizar sua ocorrência, reduzir os prejuízos causados por eles e expandir possibilidade de utilização em outros fins, mas apesar dos inúmeros trabalhos científicos divulgados a respeito de nós, existe uma lacuna de conhecimento básico sobre sua composição química e arranjo anatômico. Neste contexto, a finalidade desse trabalho é fornecer informações sobre dinâmica de elementos químicos e anatômicos que formam os nós. A espécie utilizada para o estudo foi o *Pinus elliottii* var. *elliottii*, largamente utilizado na indústria de papel e celulose e também utilizada para a produção de madeira processada. Para dar suporte ao trabalho, o Capítulo 1 apresenta revisão de estudos e pesquisas sobre o assunto. O detalhamento do estudo anatômico é apresentado no Capítulo 2: caracterização anatômica de nós em *Pinus elliottii* var. *elliottii* e o estudo químico, apresentado no Capítulo 3: estudo químico de lignina e celulose em madeira de nós de *Pinus elliottii* var. *elliottii*. No estudo anatômico, os resultados indicaram que os elementos de estudos do desenvolvimento das traqueídes (comprimento, espessura da parede, diâmetro total e de lume) apresentaram características específicas, em padrões distintos dos observados para a madeira de entorno dos nós. Nos estudos químicos foi identificada a existência de um gradiente crescente de percentual de lignina e cristalinidade da molécula de celulose entre regiões de nó, madeira livre de nó e transição; formação de estrutura mais aldeídicas em ligninas da madeira livre de nó ocorrente no entorno do nó e lignificação em estágio de maturação mais avançado nas amostras de nós.

Palavras-chave: *Pinus elliottii*; nós; anatomia; lignificação; cristalinidade da celulose.



## ABSTRACT

The knots are considered one of the most harmful defects the application timber. Its occurrence is inherent in each species, part of the natural physiology of the tree, but tree species of economic interest, are considered harmful by reducing the commercial value of wood pieces. By its influence on technological properties of wood, commercialization of forest products markets elaborate standards of specific classification and research institutes enable studies designed to assess their interference, minimize its occurrence, reduce the harm caused by them and expand the possibility of using other purposes, but despite numerous scientific papers published about knots, there is a lack of basic knowledge about their chemical composition and anatomical arrangement. In this context, the purpose of this work is to provide information on the dynamics of chemical and anatomical elements that form the knots. The species used for the study was the *Pinus elliottii* var. *elliottii*, widely used in the pulp and paper industry and also used for the production of processed wood. To support the work, Chapter 1 presents review of studies and research on the subject. The details of the anatomical study is presented in Chapter 2: anatomical characterization of knots in *Pinus elliottii* var. *elliottii* and the chemical study, presented in Chapter 3: Chemical study of lignin and cellulose in wood of *Pinus elliottii* var. *elliottii*. In the anatomical study, the results indicated that the elements of studies of the development of tracheids (length, wall thickness, overall diameter and volume) presented specific characteristics in different patterns observed for the wood around the knots. In chemical studies has identified the existence of a gradient increasing percentage of lignin and cellulose crystallinity of the molecule between knots regions, clear wood and transition; formation of more aldehydic wood lignin structure in clear wood occurring in the vicinity of the knot and lignification in more advanced stage of maturation in samples from knots.

Keywords: *Pinus elliottii*; knots; Anatomy; lignification; cellulose crystallinity.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.1:</b> Distribuição da atividade florestal à base de produtos madeireiros no Brasil (ABRAF, 2013) .....	27
<b>Figura 1.2:</b> <i>P. elliottii</i> . A - sentido horário: árvore jovem evidenciando folhas em formato de agulhas; fruto e árvores adultas (BRACELPA, 2013). B – tronco com casca desprendendo em placas. C – Disco do tronco, evidenciando anéis de crescimento (BALLONI, 2009). D – Direções estruturais da madeira (aumento de 10x): face radial, face transversal mostrando canais resiníferos e face tangencial (IPT, 2014). .....	30
<b>Figura 1.3:</b> (modificada de JUNGNIKL et al., 2009): (A) Tomografia computadorizada em 3 D de tronco com ocorrência de galhos, indicando (seta) formação de madeira de compressão em frente a área de transição galho/tronco. (B) galho inserido no tronco com ângulo de 45°. “A” indica a restrição espacial do aumento de densidade do lenho tardio no ramo; “B” e “C” indicam áreas de baixa densidade no interior do tronco e do ramo. ....	32
<b>Figura 1.4:</b> Fotos A, B, C, F: Randy O'Rourke, modificado (HOADLEY, 2000). E: acervo pessoal. (A) <i>Pinus silvestris</i> com elevada inserção de galhos e detalhe de nó; (B) Nó tipo gravata; (C) nós dispersos; (D) conjunto de nó considerado como um só nó; (E) nó de coloração avermelhada em <i>P. elliottii</i> (F) Nó vazado.....	38
<b>Figura 1.5:</b> (A) Tomografia computadorizada da junção ramo/tronco, mostrando a variação da densidade ao longo do ramo (tracejado branco) e do tronco (tracejado preto) (JUNGNIKL et al., 2009). (B) distribuição de densidade e ângulo de microfibrilas na zona de junção entre ramo e tronco e regiões próximas (modificado de JUNGNIKL et al., 2009). ....	41
<b>Figura 2.1:</b> Estágios de crescimento do nó no tronco (modificado de HOADLEY, 2000). (A) galho apresentado atividade fisiológica em desenvolvimento simultâneo ao da árvore e anéis de crescimento sendo incorporados ao corpo do galho. (B) Interrupção do crescimento do galho por poda. (C) Interrupção da atividade fisiológica do galho que se volta ligeiramente para dentro. Os primeiros anéis incorporados ainda são côncavos e direcionados para superfície do galho retirado. (D) Os anéis de crescimento do tronco principal passam a sobrepor o galho, produzindo madeira mais homogênea (limpa), considerada de qualidade superior pela indústria de processamento.....	58

**Figura 2.2:** (foto: Randy O'Rourke, modificado de HOADLEY, 2000): Galho que teve sua atividade fisiológica interrompida em determinado momento do desenvolvimento da árvore e permaneceu aderido ao tronco principal. (A) Parte integrada ao tronco que dará origem a nó aderido. (B) Parte do galho desconectada do tronco principal que dará origem a nó solto. .... 59

**Figura 2.3:** Esquema de obtenção do material para estudo. .... 63

**Figura 2.4:** Distribuição comparativa do comprimento médio ( $\mu\text{m}$ ) das traqueídes em “nós” (a) e “madeira sem nós” (b) de indivíduos adultos de *Pinus elliottii* em distintas posições do tronco (base, meio e topo). Cada ponto representa a média de medições (n=30) em cada indivíduo (n=5). Linhas horizontais (média  $\pm$  desvio padrão). Letras diferentes indicam diferenças significativas: (a) por ANOVA F [2, 12] = 84,11; P < 0,0001, (b) por Kruskal-Wallis (H = 9,74; P = 0,0014). .... 67

**Figura 2.5:** Distribuição comparativa do diâmetro total médio ( $\mu\text{m}$ ) das traqueídes em “nós” (a) e “madeira sem nós” (b) de indivíduos adultos de *Pinus elliottii* em distintas posições do tronco (base, meio e topo). Cada ponto representa a média de medições (n=30) em cada indivíduo (n=5). Linhas horizontais (média  $\pm$  desvio padrão). Letras diferentes indicam diferenças significativas: (a) por Kruskal-Wallis (H = 8,060; P = 0,0092), (b) por ANOVA (F [2, 12] = 22,09; P < 0,0001). .... 68

**Figura 2.6:** Distribuição comparativa do diâmetro médio do lume ( $\mu\text{m}$ ) das traqueídes em “nós” (a) e “madeira sem nós” (b) de indivíduos adultos de *Pinus elliottii* em distintas posições do tronco (base, meio e topo). Cada ponto representa a média de medições (n=30) em cada indivíduo (n=5). Linhas horizontais (média  $\pm$  desvio padrão). Letras diferentes indicam diferenças significativas: (a) por Kruskal-Wallis (H = 10,22; P = 0,0006), (b) por Kruskal-Wallis (H = 11,58; P = 0,0001). .... 69

**Figura 2.7:** Distribuição comparativa da espessura média da parede ( $\mu\text{m}$ ) das traqueídes em “nós” (a) e “madeira sem nós” (b) de indivíduos adultos de *Pinus elliottii* em distintas posições do tronco (base, meio e topo). Cada ponto representa a média de medições (n=30) em cada indivíduo (n=5). Linhas horizontais (média  $\pm$  desvio padrão). Letras iguais não indicam diferenças significativas: (a) por Kruskal-Wallis (H = 4,22; P = 0,1226), (b) por ANOVA (F [2, 12] = 0,5952; P < 0,567). .... 69

**Figura 2.8:** Correlação entre comprimento ( $\mu\text{m}$ ) e diâmetro total ( $\mu\text{m}$ ) das traqueídes em “nós” (a) e “madeira sem nós” (b) de indivíduos adultos de *Pinus*

*elliottii* em três posições do tronco (base, meio e topo) (n=5 em cada posição). Cada ponto representa a média de medições (n=30) em cada indivíduo (n=5). A linha contínua representa o melhor ajuste da curva e as linhas pontilhadas delimitam o intervalo de confiança (95%) (a): (F [1, 13] = 10,97; P = 0,0056). r = 0,68; R<sup>2</sup> = 0,4576; (b): (F [1, 13] = 31; 45 P < 0, 0001). r = 0,84; R<sup>2</sup> = 0, 7075. ... 70

**Figura 2.9:** Correlação entre comprimento (µm) e diâmetro do lume (µm) das traqueídes em “nós” (a) e “madeira sem nós” (b) de indivíduos adultos de *Pinus elliottii* em três posições do tronco (base, meio e topo) (n=5 em cada posição). Cada ponto representa a média de medições (n=30) em cada indivíduo (n=5). A linha contínua representa o melhor ajuste da curva e as linhas pontilhadas delimitam o intervalo de confiança (95%). (a): F [1, 13] = 10,58; P = 0,0063, r = 0,67; R<sup>2</sup> = 0,4487; (b): F [1, 13] = 21,02; P = 0,0005, r = 0,79; R<sup>2</sup> = 0, 6179. .... 71

**Figura 2.10:** Correlação entre comprimento (µm) e espessura da parede (µm) das traqueídes em “nós” (a) e “madeira sem nós” (b) de indivíduos adultos de *Pinus elliottii* em três posições do tronco (base, meio e topo) (n=5 em cada posição). Cada ponto representa a média de medições (n=30) em cada indivíduo (n=5). A linha contínua representa o melhor ajuste da curva e as linhas pontilhadas delimitam o intervalo de confiança (95%). (a): F [1, 13] = 0,8317; P = 0,3784, r = - 0,25; R<sup>2</sup> = 0,0601; (b): F [1, 13] = 0,0088; P = 0,9266, r = 0,03; R<sup>2</sup> = 0,0007. .... 71

**Figura 2.11:** Análise de Agrupamento a partir da distância Euclidiana simples em grupos pareados, de partes de indivíduos adultos de *Pinus elliottii*, considerando amostras das traqueídes obtidas em “nós” da base (em vermelho: 1, 2, 3, 4 e 5), do meio (em azul escuro: 6, 7, 8, 9 e 10) e do topo (em rosa: 11, 12, 13, 14, e 15) dos troncos. Variáveis consideradas: comprimento (µm), diâmetro total (µm); diâmetro do lume (µm) e espessura da parede (µm). Coeficiente de correlação cofenética = 0,9347. Nas ligações, os percentuais de confiabilidade (em preto) das mesmas após 9.999 permutações por Bootstrap. .... 73

**Figura 2.12:** Análise de Agrupamento a partir da distância Euclidiana simples em grupos pareados, de partes de indivíduos adultos de *Pinus elliottii*, considerando amostras das traqueídes obtidos em “madeira sem nós” da base (em verde: 1, 2, 3, 4 e 5), do meio (em roxo: 6, 7, 8, 9 e 10) e do topo (em azul claro: 11, 12, 13, 14, e 15) dos troncos. Variáveis consideradas: comprimento (µm), diâmetro total (µm); diâmetro do lume (µm) e espessura da parede (µm). Coeficiente de

correlação cofenética = 0,8284. Nas ligações, os percentuais de confiabilidade (em preto) das mesmas após 9.999 permutações por *Bootstrap*..... 74

**Figura 2.13:** Escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) em três dimensões, a partir da distância Euclidiana simples, em grupos pareados, de partes de indivíduos adultos de *Pinus elliottii*, considerando amostras das traqueídes obtidos em “nós” na base (vermelho), no meio (azul escuro) e no topo (rosa) dos troncos. Variáveis consideradas: comprimento (µm), diâmetro total (µm); diâmetro do lume (µm) e espessura da parede (µm). Estresse = 0 (Eixo 1 ≈ 1; Eixo 2 ≈ 0). ..... 75

**Figura 2.14:** Escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) em duas dimensões, a partir da distância Euclidiana simples, em grupos pareados, de partes de indivíduos adultos de *Pinus elliottii*, considerando amostras das traqueídes obtidos na “madeira sem nós” na base (verde), no meio (roxo) e no topo (azul claro) dos troncos. Variáveis consideradas: comprimento (µm), diâmetro total (µm); diâmetro do lume (µm) e espessura da parede (µm). Estresse = 0 (Eixo 1 = 1; Eixo 2 = 0)..... 76

**Figura 2.15:** Escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) em três dimensões, a partir da distância Euclidiana simples, em grupos pareados, de partes de indivíduos adultos de *Pinus elliottii*, considerando amostras das traqueídes obtidos em “nós” na base (vermelho), no meio (azul escuro) e no topo (rosa) dos troncos. Variáveis consideradas: comprimento (µm), diâmetro total (µm); diâmetro do lume (µm) e espessura da parede (µm). Estresse = 0 (Eixo 1 ≈ 1; Eixo 2 ≈ 0). Elipses de 95%, com cor associada a cada conjunto pré-estabelecido. .... 77

**Figura 2.16:** Análise de Agrupamento a partir da distância Euclidiana simples em grupos pareados, de partes de indivíduos adultos de *Pinus elliottii*, considerando amostras das traqueídes obtidas em “madeira sem nós”, de 1 a 15 (1 a 5 em verde = base; 6 a 10 em roxo = meio; e 11 a 15 em azul claro = topo) e amostras dos “nós”, de números de 16 a 30 (16 a 20 em vermelho = base; 21 a 25 em azul escuro = meio; e 26 a 30 em rosa = topo). Variáveis consideradas: comprimento (µm), diâmetro total (µm); diâmetro do lume (µm) e espessura da parede (µm). Coeficiente de correlação cofenética = 0,8867. Nas ligações, os percentuais de confiabilidade (em preto) das mesmas após 9.999 permutações por *Bootstrap*.. 79

<b>Figura 2.17:</b> Escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) em duas dimensões, a partir da distância Euclidiana simples, em grupos pareados, de partes de indivíduos adultos de <i>Pinus elliottii</i> , considerando amostras das traqueídes na “madeira sem nós”, formadas pelos polígonos: verde (base), roxo (meio) e azul claro (topo), à esquerda do gráfico; e as amostras dos “nós”, formadas pelos polígonos vermelhos (base), azul escuro (meio) e rosa (topo), à direita do gráfico. Variáveis consideradas: comprimento (µm), diâmetro total (µm); diâmetro do lume (µm) e espessura da parede (µm). Estresse = 0,000539 (Eixo 1 = 1; Eixo 2 = 0).....	80
<b>Figura 2.18:</b> Escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) em duas dimensões, a partir da distância Euclidiana simples, em grupos pareados, de partes de indivíduos adultos de <i>Pinus elliottii</i> , considerando amostras das traqueídes na “madeira sem nós” (verde - base, roxo – meio, azul claro - topo); e com “nós”(vermelho-base, azul escuro – meio, rosa -topo).Variáveis consideradas: comprimento (µm), diâmetro total (µm); diâmetro do lume (µm) e espessura da parede (µm). Estresse = 0,000539 (Eixo 1 = 1; Eixo 2 = 0). Elipses de 95%, com cor associada a cada conjunto pré-estabelecido.....	81
<b>Figura 2.19:</b> (A) - Traqueídes de nó em seção transversal observadas com autofluorescência (comprimento de onda de excitação em 470-490 nm; emissão em 515-565 nm), evidenciando a orientação espiralada das células (setas em vermelho) e transição nó-madeira (amarelo). Barra = 100 µm. B – Microscopia eletrônica de varredura. Detalhes da orientação transversal das traqueídes do nó, posicionadas perpendicularmente às traqueídes da madeira adjacente.....	83
<b>Figura 2.20:</b> zona de transição nó-madeira em <i>P. elliottii</i> da região da base, evidenciando o padrão de crescimento das traqueídes entre o nó (vivo) e a madeira circundante (zona de transição). Em (A) direção tangencial do fuste; em (C) seção transversal das traqueídes de formação do nó, com distinção do anel de crescimento. Em (B) as células em grã inclinada. Barra=100 µm .....	84
<b>Figura 2.21:</b> zona de transição nó-madeira, evidenciando espessamento menos uniforme observado na região de topo. Barra=100 µm .....	85
<b>Figura 3.1:</b> Metodologia de extração de substâncias para estudo da lignina em nós e madeira livre de nós de <i>P. elliottii</i> var. <i>elliottii</i> . (A) cavacos retirados dos discos, (B) fragmentação dos cavacos, (C) material convertido em serragem, (D) extração.....	111

<b>Figura 3.2:</b> Percentual de lignina Klason de <i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i> , considerando as condições de “madeira sem nó”, “transição madeira-nó” e “nó”; e a posição no tronco (base, meio e topo). Traços em preto representam as médias em cada situação. ....	116
<b>Figura 3.3:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ CP/MAS da madeira sem extrativos, proveniente de nó da região da base (25% altura do fuste). ....	118
<b>Figura 3.4:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ da madeira sem extrativos, proveniente de nó da região de meio (50% altura do fuste). ....	119
<b>Figura 3.5:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ da madeira sem extrativos, proveniente de nó da região de topo (100% altura comercial). ....	119
<b>Figura 3.6:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ da madeira livre de nó da região da base (25% altura do fuste). ....	122
<b>Figura 3.7:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ da madeira livre de nó da região de meio (50% altura do fuste). ....	123
<b>Figura 3.8:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ da madeira livre de nó da região de topo (100% altura do fuste). ....	123
<b>Figura 3.9:</b> Percentual de cristalinidade da celulose, ao longo do tronco de <i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i> . S/N = sem nó. ....	125
<b>Figura 3.10:</b> Espectros de RMN $^{13}\text{C}$ CP/MAS da madeira livre de extrativos integralizado na região entre (80-97 ppm) proveniente de nó (A) e normal (B) da região da base (25% altura do fuste). ....	126
<b>Figura 3.11:</b> Espectros de RMN $^{13}\text{C}$ CP/MAS da madeira livre de extrativos integralizado na região entre (80-97 ppm) proveniente de nó (A) e normal (B) da região meio do tronco (50% altura comercial). ....	127
<b>Figura 3.12:</b> Espectros de RMN $^{13}\text{C}$ CP/MAS da madeira livre de extrativos integralizado na região entre (80-97 ppm) proveniente de nó (a) e normal (b) da região de topo (100% altura comercial). ....	128
<b>Figura 3.13:</b> Espectro de infravermelho com transformada de Fourier de nó sem extrativos da região de base de <i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i> . ....	132
<b>Figura 3.14:</b> Espectro de infravermelho com transformada de Fourier de nó sem extrativos da região meio de <i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i> . ....	133
<b>Figura 3.15:</b> Espectro de infravermelho com transformada de Fourier de nó sem extrativos da região topo de <i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i> . ....	133

<b>Figura 3.16:</b> Espectro de infravermelho com transformada de Fourier de madeira livre de nó sem extrativos da região base de <i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i> .	134
<b>Figura 3.17:</b> Espectro de infravermelho com transformada de Fourier de madeira livre de nó sem extrativos da região meio de <i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i> .	134
<b>Figura 3.18:</b> Espectro de infravermelho com transformada de Fourier de madeira livre de nó sem extrativos da região topo de <i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i> .	135
<b>Figura 3.19:</b> Testes histoquímicos aplicados em seção transversal de madeira livre de nós de <i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i> . A e B: teste de Wiesner evidenciando (→) presença de lignina mais aldeídica (coloração mais escura) nos cantos de iniciação do processo de lignificação. C e D: Teste de Maüle evidenciando a presença de lignina (→) do tipo G. E e F: Auto fluorescência da lignina, mostrando processo de lignificação iniciado nos cantos (→) das células. Barras: (A, C, D, E) = 20 µm; (B e F) = 100 µm.	137
<b>Figura 3.20:</b> Testes histoquímicos aplicados em seção transversal de nós de <i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i> . A e B: teste de Wiesner evidenciando lignina menos aldeídica (coloração mais clara quando comparada a coloração evidenciada na madeira livre de nós). C e D: Teste de Maüle. E e F: Auto fluorescência da lignina. Barras: (A, C, E) = 20 µm; (B, D e F) = 100 µm.	138



## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 2: CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA DE NÓS EM *Pinus elliottii* var. *elliottii*

**Tabela 2.1:** Características morfológicas das traqueídes de nós e madeira livre de nós de *Pinus elliottii*..... 66

**Tabela 2.2:** Matriz de significância (P) das distâncias Euclidianas simples entre as três partes do tronco de indivíduos adultos de *Pinus elliottii*, considerando amostras das traqueídes obtidos em “nós” na base, no meio e no topo dos troncos. Variáveis consideradas: comprimento ( $\mu\text{m}$ ), diâmetro total ( $\mu\text{m}$ ); diâmetro do lume ( $\mu\text{m}$ ) e espessura da parede ( $\mu\text{m}$ ). 9.999 permutações. .... 78

**Tabela 2.3:** Matriz de significância (P) das distâncias Euclidianas simples entre as condições de “madeira sem nós” e “nós” (respectivamente as primeiras letras das siglas, ou seja, “M” e “N”); e as partes do tronco (base, meio e topo, respectivamente as segundas letras das siglas, ou seja, “B”, “M” e “T”); em indivíduos adultos de *Pinus elliottii*, considerando amostras de traqueídes. Variáveis consideradas: comprimento ( $\mu\text{m}$ ), diâmetro total ( $\mu\text{m}$ ); diâmetro do lume ( $\mu\text{m}$ ) e espessura da parede ( $\mu\text{m}$ ). 9.999 permutações. .... 82

### CAPÍTULO 3: ESTUDO QUÍMICO DE LIGNINA E CELULOSE EM MADEIRA DE NÓS DE *Pinus elliottii* var. *elliottii*

**Tabela 3.1:** Percentual de lignina Klason em *P. elliottii* var. *elliottii* considerando as condições de “madeira sem nó”, “transição madeira-nó” e “nó”; e a posição no tronco (base, meio e topo)..... 114

**Tabela 3.2:** Análise de variância bidirecional dos percentuais de lignina Klason de *P. elliottii* var. *elliottii* considerando as condições de “madeira sem nó”, “transição madeira-nó” e “nó”; e a posição no tronco (base, meio e topo)..... 115

**Tabela 3.3:** Deslocamentos químicos (ppm) de átomos de carbono no espectro RMN do  $^{13}\text{C}$  de nós de *P. elliottii* var. *elliottii*. .... 120

<b>Tabela 3.4:</b> Atribuições dos deslocamentos químicos (ppm) de átomos de carbono no espectro RMN do $^{13}\text{C}$ de amostras de madeira livre de nós de <i>P. elliotii</i> , var. <i>elliotii</i> . .....	124
--	-----

<b>Tabela 3.5:</b> Sinais de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier provenientes das amostras de nós e madeira livre de nós (adaptado de Abreu, 1997).....	131
---	-----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

ABRAF – Associação Brasileira dos Produtores de Florestas Plantadas

AIA - Ácido Indol Acético

ASTM – American Society for Testing and Materials

CP/MAS - Cross Polarization Magic Angle Spinning

CT - Comprimento Total

DL - Diâmetro do Lume

DT - Diâmetro (DT)

FTIR - Fourier transform infrared spectroscopy

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – Ácido Sulfúrico

HCl – Ácido Clorídrico

HMR – 7-hydroxymatairesinol

KBr – Brometo de Potássio

MB – Madeira Base

MDF - Medium Density Fiberboard

MDP - Medium Density Particleboard

MM - Madeira Meio

MOE - Módulo de elasticidade

MT - Madeira Topo

NB - Nó Base

NH<sub>4</sub>OH – Hidróxido de Amônio

NM - Nó Meio

NMDS - Escalonamento multidimensional não métrico

NT – Nó Topo

OSB - Oriented Strand Board

PIB - Produto Interno Bruto

Ppm – Parte por milhão

RMN <sup>13</sup>C - Ressonância Magnética Nuclear do Carbono 13

VBP - Valor Bruto da Produção

µm – Micrômetros

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	21
<b>OBJETIVO</b> .....	23
Objetivos específicos .....	23
<b>SÍNTESE DOS CAPÍTULOS</b> .....	24
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	25
<b>REVISÃO TEMÁTICA</b> .....	25
1.1 ATIVIDADE FLORESTAL NO BRASIL .....	26
1.2 <i>PINUS elliottii</i> Engelm .....	28
1.3 ESTUDOS SOBRE NÓS.....	31
1.4 CLASSIFICAÇÃO DOS NÓS .....	33
1.5 TECNOLOGIAS PARA DETECÇÃO DE NÓS .....	38
1.6 MÉTODOS PARA REDUÇÃO DA OCORRÊNCIA DE NÓS.....	41
1.7 REFERÊNCIAS.....	45
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	52
<b>CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA DE NÓS EM <i>Pinus elliottii</i> var. <i>elliottii</i></b> .....	43
2.1 INTRODUÇÃO .....	53
2.2 REVISÃO DE LITERATURA .....	55
2.2.1 Propriedades das traqueídes.....	55
2.2.2 Formação de nós na madeira .....	57
2.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	62
2.3.1 Análise estatística dos dados para as variáveis anatômicas .....	64
2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	66
2.4.1 Dimensões das traqueídes .....	66
2.4.2 Correlações entre as dimensões das traqueídes .....	70
2.4.3 Análises multivariadas por grupo (“nós” e “madeira sem nós”) .....	72
2.4.4 Análises multivariadas comparativa: “nós” e “madeira sem nós” .....	78

2.4.5	Desenvolvimento das traqueídes ao longo do galho (inserido no tronco) .....	83
2.5	CONCLUSÃO .....	86
2.6	REFERÊNCIAS.....	87
<b>CAPÍTULO 3.....</b>		
<b>ESTUDO QUÍMICO DE LIGNINA E CELULOSE EM MADEIRA DE NÓS DE <i>Pinus elliotii</i> var. <i>elliotii</i> .....</b>		
		91
3.1	INTRODUÇÃO .....	92
3.2	REVISÃO DE LITERATURA .....	94
3.2.1	Lignina .....	95
3.2.2	Parâmetros que influenciam a variação da lignina .....	97
3.2.3	Celulose.....	99
3.2.4	Composição química dos nós e perspectiva de utilização.....	102
3.2.5	Técnicas para caracterização de lignina.....	104
3.2.5.1	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear do <sup>13</sup> C .....	104
3.2.5.2	Espectroscopia no Infravermelho.....	106
3.2.5.3	Testes Histoquímicas .....	107
3.3	MATERIAL E MÉTODOS.....	110
3.3.1	Lignina Klason .....	111
3.3.2	RMN <sup>13</sup> C .....	112
3.3.3	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier ....	112
3.3.4	Testes Histoquímicos .....	112
3.3.5	Wiesner .....	113
3.3.6	Teste de Mäule .....	113
3.3.7	Fluorescência .....	113
3.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	114
3.4.1	Lignina Klason .....	114

3.4.2	RMN de $^{13}\text{C}$ CP/MAS (Polarização Cruzada e Ângulo Mágico de Spin) .....	118
3.4.3	Espectroscopia no Infravermelho .....	130
3.4.4	Testes Histoquímicos .....	135
3.5	CONCLUSÃO .....	140
3.6	REFERÊNCIAS.....	141
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	153

## INTRODUÇÃO GERAL

Dentre os defeitos da madeira, os nós são considerados um dos mais nocivos no que diz respeito à depreciação comercial (SZÜCS *et al.*, 2008). Sua presença numa peça pode afetar a resistência, dificultar o processo de desdobro, aplainamento e propiciar o surgimento de fissuras em elementos estruturais, além de diminuir a capacidade de carga da madeira (WANG *et al.*, 2013). Na Indústria celulósica apresenta pouco valor, sendo considerado prejudicial para a qualidade da polpa, devendo, preferencialmente, ser separado antes de polpação (HOLMBOM, 2003).

Pela sua influência nas propriedades tecnológicas é possível encontrar um expressivo número de trabalhos que avaliam a interferência dos nós na qualidade da madeira e que buscam ferramentas para sua detecção; além de metodologias de tratos silviculturais que minimizam sua ocorrência (SAHLBERG, 1995; ZHONG *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2013). No entanto, existe um escasso conhecimento sobre características estruturais anatômicas (e.g. morfologia celular e orientação das fibras) e químicas (e.g. lignina, celulose, extrativos) referentes aos nós e suas regiões circunvizinhas. O avanço do conhecimento de características do nó é vital para se calcular de forma precisa a distribuição de tensões em peças serradas acometidas por esse fator. Tal passo só é possível a partir de análise estrutural minuciosa (BUKSNOWITZ *et al.*, 2010). A compreensão detalhada da dinâmica de formação, do desenvolvimento do nó e da forma como sua estrutura se relaciona com o restante da superfície é essencial para melhor aproveitamento tecnológico da madeira (HOADLEY, 2000).

A descrição anatômica e a composição química representam parâmetros essenciais para estudos tecnológicos referente à madeira e tem sido largamente utilizada com o propósito de ampliar a qualidade de produtos de madeira. Enquanto a descrição anatômica compreende a estrutura interna das plantas, a formação e a organização dos tecidos nos diferentes órgãos; o conhecimento da composição química elucida mecanismos reguladores de crescimento e defesa. O domínio do conhecimento de ambos numa espécie permite determinar um melhor



uso da madeira, definir estratégias para minimizar a depreciação e potencializar a qualidade (SEVERO *et al.* 2006), além de possibilitar a descoberta de novos subprodutos da madeira, que podem, inclusive, resultar na ampliação do valor comercial da espécie estudada.

A espécie usada para o estudo pertence ao gênero *Pinus*, constituído por 112 espécies (FERREIRA, 2009), originalmente teve sua implantação destinada a produção de papel e celulose (PALERMO *et al.*, 2013), mas também tem sido destinado à produção de madeira para processamento mecânico, madeira serrada, lâminas de madeira, painéis dos tipos aglomerados, compensados, MDF, OSB e na extração de resina (CADEMARTORI *et al.*, 2012); o que justifica o aprofundamento do conhecimento sobre defeitos que possam reduzir o seu desempenho.

Em relação à composição química da madeira, o conhecimento do mecanismo de formação da lignina ainda requer muitas pesquisas de natureza teórica e experimental, principalmente relacionando a lignificação com a qualidade do produto final nos diversos segmentos do setor florestal. O controle do teor e da modulação da biossíntese da lignificação, por exemplo, oferece um avanço tecnológico para parcial remoção da lignina de tecidos lenhosos, processo que requer muitos investimentos, especialmente devido a sua importância na indústria de polpa celulósica. A possibilidade de ativar ou desativar enzimas específicas permitiria modelar a formação da lignina de acordo com a sua finalidade (ABREU *et al.*, 2004). Nesse contexto, o intuito principal desse trabalho é ampliar o conhecimento referente aos nós, preenchendo, especialmente as lacunas existentes quanto aos componentes químicos e à descrição de elementos anatômicos de sua formação. A partir desse conhecimento básico, pesquisas que contemplem manipulação genética para ampliação da qualidade de peças de madeira que apresentam nós podem ser mais bem discutidos e avanços na buscas de material com interface nó-madeira mais resistente podem ser alcançados. O entendimento de composição química e anatômica in loco permitiria, ainda, expandir a possibilidade de se calcular com precisão as forças (resistência, ruptura, flexão) atuantes em áreas específicas.

## OBJETIVO

O objetivo geral desse trabalho é apresentar características de nós na espécie *Pinus elliottii* var. *elliottii*, nos campos da química e anatomia da madeira.

### Objetivos específicos

1. Elaborar uma síntese de pesquisas relativas ao estudo do nó, a partir de trabalhos científicos, com o intuito de fornecer subsídios e estímulo às futuras investigações sobre nós e sua relação com a qualidade da madeira.
2. Caracterizar anatomicamente a madeira proveniente da região de nós de indivíduos da espécie *Pinus elliottii* var. *elliottii*, comparando as variáveis de crescimento das traqueídes em três regiões do tronco.
3. Avaliar quantitativamente a lignificação e a cristalinidade da celulose na madeira de nós ao longo do tronco da mesma espécie.

## SÍNTESE DOS CAPÍTULOS

### CAPÍTULO 1: REVISÃO TEMÁTICA

Neste capítulo é apresentado um breve resumo da situação atual da produção e consumo de produtos de origem florestal, originados a partir de madeira serrada e as características gerais da espécie objeto do estudo, como origem, exigências de plantio e aplicabilidade. Também agrupa informações de diferentes áreas de estudos, como tecnologia de produtos florestais, fisiologia vegetal e fotoquímica, para ampliar o conhecimento sobre os nós. Nele são apresentados trabalhos que versam sobre os mecanismos de indução dos galhos, que originam os nós, trabalhos que calculam as forças admitidas pela peça de madeira de acordo com o formato que o nó apresenta e mecanismos usados para sua redução em espécies comerciais, entre outros.

### CAPÍTULO 2: CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA DE NÓS EM *Pinus elliottii* var. *elliottii*

No capítulo 2 é apresentado um estudo das dimensões (comprimento, diâmetro total, diâmetro do lume e espessura da parede) das traqueídes que formam a madeira do nó, considerando a posição de inserção do galho ao longo do tronco (base, meio e topo). Para efeito de comparação, são apresentados resultados da avaliação do incremento das mesmas variáveis, obtidos a partir de amostras da madeira livre de nós.

### CAPÍTULO 3: ESTUDO QUÍMICO DA LIGNINA E CELULOSE EM MADEIRA DE NÓS DE *Pinus elliottii* var. *elliottii*

No capítulo 3 são apresentados resultados de estudos sobre lignificação e cristalinidade da celulose em células dos nós e, para comparação, da madeira ao longo das três posições do tronco. No estudo da quantificação do percentual de lignina, além dos valores para o nó, são apresentados os resultados para a variação ao longo do tronco de regiões de transição entre o nó e a madeira.

## **CAPÍTULO 1**

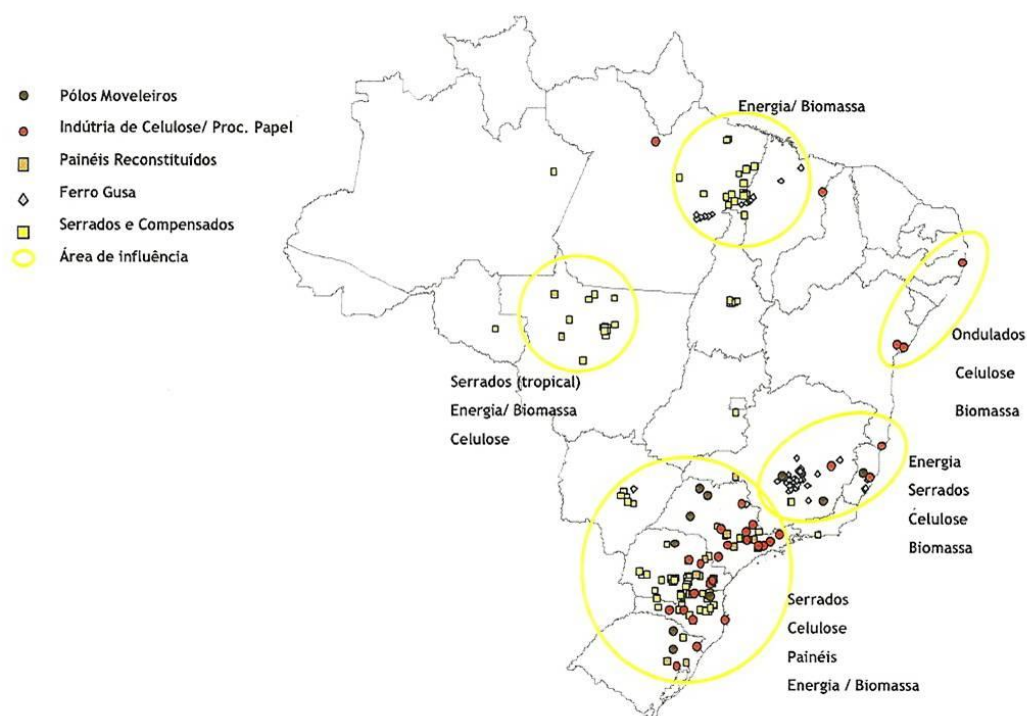
### **REVISÃO TEMÁTICA**

## 1.1 ATIVIDADE FLORESTAL NO BRASIL

O Brasil tem uma área total absoluta de aproximadamente 8.514.877 km<sup>2</sup> (851,4 milhões de hectares) (IBGE). Deste total, 477,7 milhões de hectares são florestas naturais e 6,5 milhões de hectares são florestas plantadas, sendo 4.259 milhões de hectares com Eucalipto; 1.562 milhão de hectares com Pinus (AMATA, 2009; ABRAF, 2013).

A atividade de base florestal brasileira é segmentada, principalmente, em celulose e papel, siderurgia a carvão vegetal, móveis e madeira processada mecanicamente, que engloba a produção de madeira serrada, painéis reconstituídos (chapas de *Medium Density Particleboard*- MDP, chapas de *Medium Density Fiberboard* - MDF e chapas de *Oriented Strand Board* – OSB), compensados, laminados e produtos de maior valor agregado; além de produtos não madeireiros e geração de resíduos, que podem ser destinados à geração de energia (elétrica e térmica), à fabricação de *pallets* e briquetes (AMATA, 2009). Em 2012, 35,2% de toda a madeira de florestas plantadas produzida no país foi utilizada para a produção de celulose, ao passo que a produção de painéis de madeira industrializada, serrados e compensados consumiu, respectivamente, 7,1%, 16,4% e 2,7% do total de madeira produzida. O restante (38,7%) foi destinado à produção de carvão vegetal, lenha e outros produtos florestais (ABRAF, 2013).

As dimensões continentais do Brasil favorecem o desenvolvimento do parque industrial de base florestal ao longo de todo o seu território; porém, as empresas tendem a se concentrar em regiões onde aspectos regionais e logísticos favorecem a elevação de seus níveis de competitividade (FIGURA 1.1). A área plantada com Pinus, por exemplo, está concentrada principalmente na região sul do país (84,7%), onde as condições edafoclimáticas são favoráveis à espécie e localização de indústrias de processamento da madeira facilitam o escoamento da produção (ABRAF, 2013).



**Figura 1.1:** Distribuição da atividade florestal à base de produtos madeireiros no Brasil (ABRAF, 2013)

Para a economia brasileira, o setor de florestas plantadas contribui com uma parcela importante na geração de produtos, tributos e empregos. Sua participação no Produto Interno Bruto (PIB) nacional em 2012 correspondeu a 3,4% do PIB nacional (ABRAF, 2013) e o valor bruto da produção (VBP) obtido pelo setor totalizou R\$ 56,3 bilhões. Os tributos arrecadados no mesmo ano corresponderam a R\$ 7,6 bilhões (0,5% da arrecadação nacional). O país é o terceiro maior produtor mundial de celulose, atrás apenas dos Estados Unidos e Canadá (AMATA, 2009). Entre 2002 e 2012, a indústria do setor cresceu em média 5,7% a.a., com produção e consumo totalizando 13,9 milhões e 5,8 milhões de toneladas respectivamente.

O segmento de painéis de madeira industrializada, assim como papel e celulose, vem se mostrando representativo para as espécies de Pinus; com consumo de 24,4% da área plantada com a espécie (ABRAF, 2013). Na última década a produção anual de painéis de madeira industrializada cresceu de 3,1 milhões de toneladas para 7,3 milhões, devido principalmente, ao aumento do consumo, que passou de 2,8 milhões para 7,2 milhões de toneladas. O setor de compensados seguiu a tendência de crescimento, com produção de compensado

evoluindo de 1,6 milhões de m<sup>3</sup> em 2002, para 2,1 milhões de m<sup>3</sup> em 2012. No mesmo período, o consumo evoluiu de 0,5 para 1,1 milhões de m<sup>3</sup> anuais, resultando em um incremento de 9,0% a.a. (ABRAF, 2013).

Entre as espécies de *Pinus* mais plantadas e utilizadas pela indústria madeireira, destaca-se o *Pinus elliottii*. A espécie foi introduzida no país em 1936 pelo Instituto Florestal de São Paulo, juntamente com o *Pinus taeda*. Entre 1955 a 1964 foram estabelecidos grandes programas de reflorestamento, baseados exclusivamente em *Pinus taeda* e *Pinus elliottii* e em 1958 teve início o primeiro plantio comercial de *Pinus* realizado pelo empresário alemão Richard Freudenberg, em Agudos (SP) (BRACELPA, 2013)

## 1.2 *Pinus elliottii* Engelm

As espécies do gênero *Pinus* são subdivididas em dois ou três subgêneros; sendo o subgênero *Pinus*, com 73 espécies e o subgênero *Strobus*, os mais conhecidos (FERREIRA, 2009). Na espécie *Pinus elliottii* Engelm, existem duas variedades, *Pinus elliottii* var. *elliottii* e *Pinus elliottii* var. *densa*, sendo a primeira a mais importante comercialmente (KAMM *et al.*, 1996).

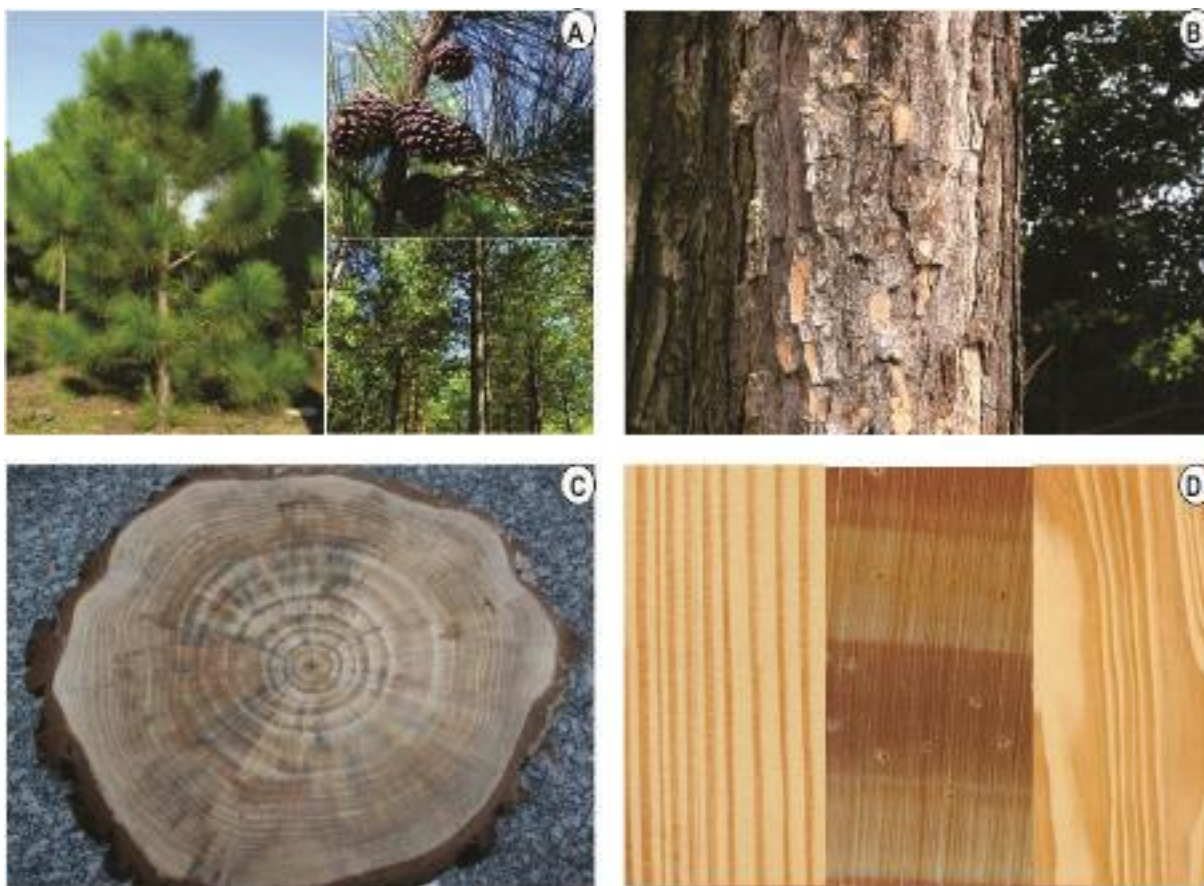
A espécie ocorre naturalmente no sul e sudeste dos Estados Unidos desde a planície costeira da Carolina do Sul até a região central da Flórida e, para oeste, até a Louisiana entre 28° e 33° de latitude, sendo plantados em países tropicais em altitudes que vão de 500 a 2500 m (WEBB *et al.*, 1980; NUTTO *et al.*, 2001). No Brasil a variedade *elliottii* é a espécie mais plantada das regiões Sul e Sudeste e a região mais apropriada ao maior crescimento e produtividade de madeira avança até os Cerrados no sul do estado de São Paulo, onde as altas temperaturas e a ocorrência de deficiência hídrica, em parte do ano, limitam o desenvolvimento de outras espécies como *P. taeda* (REMADE, 2013).

Na região de ocorrência natural, *Pinus elliottii* encontra-se em sítios ácidos e arenosos, em baixadas e em solos hidromórficos (NUTTO *et al.*, 2001). A facilidade de adaptação em solos ácidos deve-se ao fato de *P. elliottii* ser um simbionte obrigatório de um basidiomiceto (fungo) que forma micorrizas. As micorrizas auxiliam na captação de água e nutrientes pela árvore o que favorece o estabelecimento da espécie em solos ácidos e distróficos (OLDEMAN, 1990). A

temperatura média anual nas regiões de ocorrência natural varia de 15 a 24°C, podendo suportar de 4 a 12°C no inverno e de 23 a 32°C no mês mais quente, quando, esporadicamente, pode suportar até 41°C (AGUIAR *et al.*, 2011). A precipitação média anual varia entre 650 e 2500 mm com 2 a 4 meses de seca (LAMPRECHT, 1990). A espécie (Figura 1.2, A e B) alcança alturas de 20 a 30 m, podendo chegar a 40 metros em condições favoráveis de sítio. O diâmetro do tronco varia entre 60 e 90 centímetros, apresentando casca sulcada, acinzentada quando jovem e marrom alaranjada depois de adulto, que se desprendem em formato de placas; o fuste é normalmente reto, com copa oval e ramagem concentrada na região superior. As folhas são verde escura, brilhantes, possuem formato de agulhas e são inseridas aos pares ou três por fascículo, se concentrando nas extremidades dos ramos. Os frutos são terminais, de formato cônico em escamas, com cor marrom e as sementes são ovóides rapidamente triangulares, de cor preta ou com manchas. As raízes chegam a profundidades de até 5 m, apresenta acículas mais densas, longas e coloração mais escura (NUTTO *et al.*, 2001; MORAIS *et al.*, 2005). A madeira de *Pinus elliotii* (FIGURA 1.2, C e D) pertence ao grupo das “madeiras moles”, contém alto teor de resina e densidade superior às outras espécies de *Pinus*. Sua estrutura é homogênea, com predomínio de elementos longos e retos. A cor do cerne varia do amarelo-claro ao alaranjado ou castanho-avermelhado, é mais durável e pode ser tratada com facilidade, demonstrando boa trabalhabilidade para utilização na construção naval, mastros, postes e produção de caixotes (NUTTO *et al.*, 2001; EVERT, 2013).

Devido à sua grande tolerância, *P. elliotii* é descrito como espécie de clímax de incêndio, pela sua capacidade de rebrota após episódios de fogo (BOYER, 1979; RICKLEFS, 2003). Apesar de apresentar um incremento volumétrico menor do que *P. taeda*, sua produção de madeira adulta inicia-se mais cedo, a partir de sete a oito anos de idade, ao contrário de *P. taeda*, que começa com 12 a 15 anos. Esta característica é considerada um diferencial importante para a produção de madeira destinada ao processamento mecânico, visto que a madeira de *P. elliotii* apresenta melhor qualidade física e mecânica quando comparada à de *P. taeda* (AGUIAR *et al.*, 2011)





**Figura 1.2:** *P. elliottii*. A - sentido horário: árvore jovem evidenciando folhas em formato de agulhas; fruto e árvores adultas (BRACELPA, 2013). B – tronco com casca desprendendo em placas. C – Disco do tronco, evidenciando anéis de crescimento (BALLONI, 2009). D – Direções estruturais da madeira (aumento de 10x): face radial, face transversal mostrando canais resiníferos e face tangencial (IPT, 2014).

### 1.3 ESTUDOS SOBRE NÓS

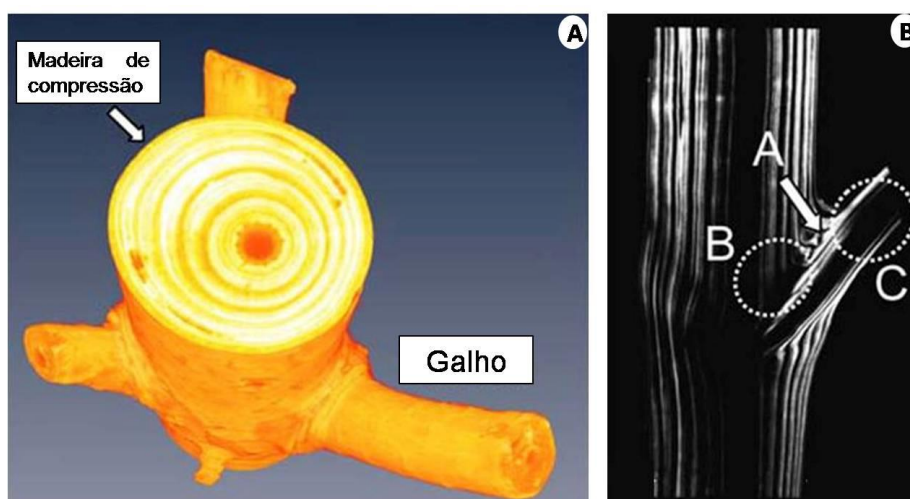
Estudos sobre nós de madeira são realizados desde a década de 30 (PAUL, 1938). Apesar disso, ainda existem diversas lacunas em termos de conhecimento visto que tais estudos tratam, principalmente, de tratamentos silviculturais que buscam limitar sua frequência e ocorrência (SANQUETTA *et al.*, 2003), minimizar efeitos prejudiciais na madeira como produto final (VÍQUEZ e PÉREZ, 2005), criar métodos de detecção e desenvolver técnicas que correlacionem características físicas dos nós, como tamanho, forma e localização, com propriedades mecânicas específicas (ZHANG *et al.*, 2006; OSCARSSON *et al.*, 2012). Além da área de Tecnologia de Produtos Florestais, o estudo dos nós tem despertado interesse da Medicina e de áreas de produtos alimentícios (PHELAN *et al.*, 2009) pelo potencial de subprodutos que apresentam.

Os nós são definidos como interseções de ramos no tronco (BUKSNOWITZ *et al.*, 2010). É a porção basal de um ramo cuja estrutura fica rodeada pelo tronco ou, ainda, o local onde o ramo (ou galho) se encontra com a madeira do tronco. Cada nó é, dessa forma, uma porção de um ramo que se desenvolveu a partir da medula (HOADLEY, 2000). Os nós possuem sistemas independentes de anéis concêntricos de crescimento e são formados principalmente por fibras de compressão morfolologicamente distintas das fibras de madeira normais (SHIGO, 1985). Apresentam baixo teor de umidade e densidade duas vezes maior que a madeira normal (SAHLBERG, 1995). A madeira que compreende a região do nó apresenta desvios acentuados de suas células, orientação de grã<sup>1</sup> mais ou menos perpendicular à madeira circundante, irregularidades dos anéis de crescimento, além de eventual descontinuidade entre o nó e a madeira circundante, o que resulta em redução da resistência (HOADLEY, 2000). Na zona de interseção entre o galho e o tronco há um aumento de densidade das camadas de lenho tardio, restrito à junção galho/tronco; a apenas dois centímetros de distância dessa zona há uma diminuição considerável da densidade a partir do tronco. O tecido do galho não apresenta gradiente acentuado da densidade entre lenho

---

<sup>1</sup> “A grã se refere à direção do alinhamento dos componentes axiais – fibras, traqueídes, elementos de vaso e células de parênquima – quando considerados em conjunto” (EVERT, 2013 p. 387).

tardio e lenho inicial e o núcleo apresenta baixa densidade, que pode ser comparável a densidade da medula e do tecido do lenho inicial do tronco. Acima da junção do galho, em direção às folhas, uma área de baixa densidade também é observada. A combinação da densidade com o ângulo de inclinação da microfibrila<sup>2</sup>, principalmente na região de base do galho, confere flexibilidade, aumento da capacidade de deformação da madeira de galhos e atua como proteção contra a transmissão de carga do galho em direção ao tronco (Figura 1.3) (JUNGNIKL *et al.*, 2009).



**Figura 1.3:** (modificada de JUNGNIKL *et al.*, 2009): (A) Tomografia computadorizada em 3 D de tronco com ocorrência de galhos, indicando (seta) formação de madeira de compressão em frente a área de transição galho/tronco. (B) galho inserido no tronco com ângulo de 45°. "A" indica a restrição espacial do aumento de densidade do lenho tardio no ramo; "B" e "C" indicam áreas de baixa densidade no interior do tronco e do ramo.

Os nós são considerados o defeito mais determinante para a classificação da qualidade da madeira. Influenciam desde a sua origem, com a excentricidade da medula, até a utilização do produto final, diminuindo a maioria das propriedades mecânicas da madeira (VIEIRA *et al.*, 2010). As alterações acontecem devido à interrupção na continuidade da direção das fibras de madeira ligadas aos nós. As mudanças induzidas dependem do tamanho, da localização e da forma do nó; além do seu estado de solidez, que por sua vez depende do grau de inclinação em relação ao tronco e do tipo de estresse ocasionado pela pressão das células circundantes (MOHAN *et al.*, 2014). Em relação ao tamanho, nós com

<sup>2</sup> Moléculas de celulose unidas por pontes de hidrogênio (EVERT, 2013).

medidas entre 0,18 e 0,38 mm de comprimento já apresentam um grande impacto sobre as propriedades mecânicas da madeira serrada (TONG *et al.*, 2013).

O nó influencia de tal forma as peças de dimensões estruturais (vigas e similares) que a menor resistência dessas, em comparação aos corpos de prova livres de defeitos, pode ser vista como consequência quase exclusiva da ocorrência e distribuição de nós (OSCARSSON *et al.*, 2012). Em peças estruturais sujeitas à flexão estática os esforços são maiores na porção média do comprimento e nas extremidades. Por essa razão, quanto mais próxima a localização do nó dessas regiões, maior será seu efeito sobre a resistência da madeira (KOLLMAN e COTÊ, 1968). É o defeito que mais reduz a força da madeira de utilização estrutural. A propriedade mais afetada é a resistência à tração longitudinal, seguida pela resistência à flexão ou módulo de ruptura (MOR), a força de compressão paralela a grã e o módulo de elasticidade (MOE) (PHILLIPS *et al.*, 1981; FOLEY, 2001), sendo o MOR e MOE, mais relacionados com o tamanho do nó em relação à peça onde está inserido (LAM *et al.*, 2005). Do ponto de vista da usinagem, um nó que se estende através de uma tábua pode fazer com que esta se quebre ao meio sob pequenas cargas (HOADLEY, 2000).

#### 1.4 CLASSIFICAÇÃO DOS NÓS

Os nós são motivo de preocupação econômica para produtores e usuários da madeira serrada, visto que o valor da madeira é diretamente proporcional à sua qualidade e integridade estrutural, a qual está baseada no tipo, tamanho e localização dos nós (MOHAN *et al.*, 2014).

A frequência e o tamanho dos nós estão dentre os primeiros fatores de depreciação considerados pelos fornecedores para classificar e estimar o preço da madeira. A forma de um nó em superfícies serradas é determinada pela direção tomada pelo corte no momento do processamento da madeira (MARTÍN *et al.*, 2002). Quando a madeira é serrada a partir das toras e o ramo é serrado perpendicularmente ao seu comprimento, o nó apresentará formato arredondado. Se o corte for diagonal ao comprimento do ramo, o nó será visualizado em formato oval. Nó aderido ocorre quando a tora é serrada longitudinalmente ao

ramo. O nó é classificado como vivo quando ocorre crescimento contínuo no cruzamento entre o galho e o tronco da árvore. Quando o ramo morre e há um crescimento adicional da árvore, envolvendo o galho o nó resultante é classificado como nó morto (MOHAN *et al.*, 2014).

As normas internacionais de classificação da madeira estabelecem padrões rígidos na busca de alta qualidade do produto final e os mercados de comercialização de produtos madeireiros elaboram normas para a padronização da classificação de peças de madeira serrada que incluem número, frequência, diâmetro e sanidade de nós (VÍQUEZ e PÉREZ, 2005), considerando-os principalmente em duas categorias: nós vivos e nós mortos. Os nós mortos são considerados mais problemáticos pela possibilidade de se desprenderem, afetando, dessa forma, mais acentuadamente as propriedades da madeira (FOELKEL, 2009).

Países com tradição no uso da madeira definem suas normas para padronizar e otimizar o amplo uso da madeira. Dentre as principais normas para classificação de madeiras, estão: DIN 1052/88 (norma alemã); AS 2858-86 (*Timber - Softwood - Visually stress-graded for structural purposes*) da Austrália; CSA 086.1-94/89 da NLGA (*National Lumber Grades Authority*) do Canadá; EUROCODE 5/93 (norma da União Européia) e NCh1207-90 (Pino Radiata – Clasificación visual para uso estructural – especificaciones de los grados de calidad) do Chile (CARREIRA, 2003; MIOTTO e DIAS, 2006). Quase todas as normas para classificação de madeira são baseadas na norma americana ASTM D245-93 (*Standard Practice for Establishing Structural Grades and Related Allowable Properties for Visually Graded Lumber*) (GAVA, 2005; 2009), que não fornece as regras de classificação visual da madeira (CARREIRA, 2003), mas define critérios para avaliação (MELO *et al.*, 2010), mensuração dos defeitos e fornece base para limitar os defeitos em função de uma razão de resistência (NOGUEIRA, 2007; CARREIRA e DIAS, 2005).

Segundo Carreira (2003) a norma ASTM D245-93 estabelece que tanto a localização como a natureza dos nós devem ser avaliadas por todo comprimento da peça; e a razão da resistência associada ao nó é calculada a partir de uma relação teórica entre a capacidade de resistência de uma peça de madeira com nó e a capacidade de resistência de uma peça que não apresente defeitos. A norma fornece equações teóricas específicas para a determinação máxima de

dimensões dos nós, alocando as peças de madeira serrada em classes distintas considerando tais medidas. Para essas medições devem ser considerados os nós de maior dimensão localizados no centro e na borda da face larga da peça serrada, assim como os nós posicionados na face estreita e as mensurações podem ser feitas diretamente na superfície da peça ou pelo método da equivalência, onde a proporção da seção transversal da peça ocupada pelo nó é multiplicada pela largura real da face em que o nó ocorre. O nó deverá ser considerado de borda, se a distância do centro do nó à borda for menor ou igual a  $\frac{2}{3}$  do diâmetro do nó e deverá ser considerado de canto se apresentar intersecção de duas faces em uma peça que não contenha medula ou quando se estende por toda a largura da face. A dimensão de um nó localizado na face larga é a média da maior e menor dimensão e o nó de canto é medido a partir das linhas paralelas às bordas da peça, devendo ser classificado em relação à face em que é medido. Um conjunto de nós deve ser tratado como um único nó, mas, se as fibras circundam cada nó de forma individual o conjunto não será considerado, devendo cada nó ser tratado como um nó isoladamente. Para determinação da profundidade do nó na peça de madeira serrada, segundo a norma, deve ser considerada a posição da medula na peça, onde um nó que ocorre tanto na face estreita como na face larga de uma peça que não apresente medula é medido e classificado na face larga, com o seu diâmetro determinado pela média da maior e da menor dimensão. A norma ASTM D245-93 determina ainda, parâmetros específicos para avaliação de nós em vigas, postes e colunas, assim como nós ocorrentes em tábuas.

No Brasil, a NBR 12.297 (ABNT 1991) delimita os critérios de avaliação de nós em peças de madeira serrada e a norma NBR 12.551 (ABPM 2001) define a fórmula para quantificação de nós em peças e determina nomenclatura específica para cada tipo de nó de acordo com características específicas que apresentem. Na NBR 12.297 são considerados apenas os nós que ocorrem na face com maiores dimensões e os nós de quina, não sendo consideradas para efeito de medição as mudanças de inclinação da grã em torno desses nós (RALL, 2010). Ainda segundo o autor, a nomenclatura dos nós dada pela redação da norma NBR 12.551 considera como nó de quina aquele que aparece tanto na borda como na face da peça e contém a intersecção destas superfícies longitudinais; nó de gravata é denominado o conjunto de dois nós com formas alongadas, que

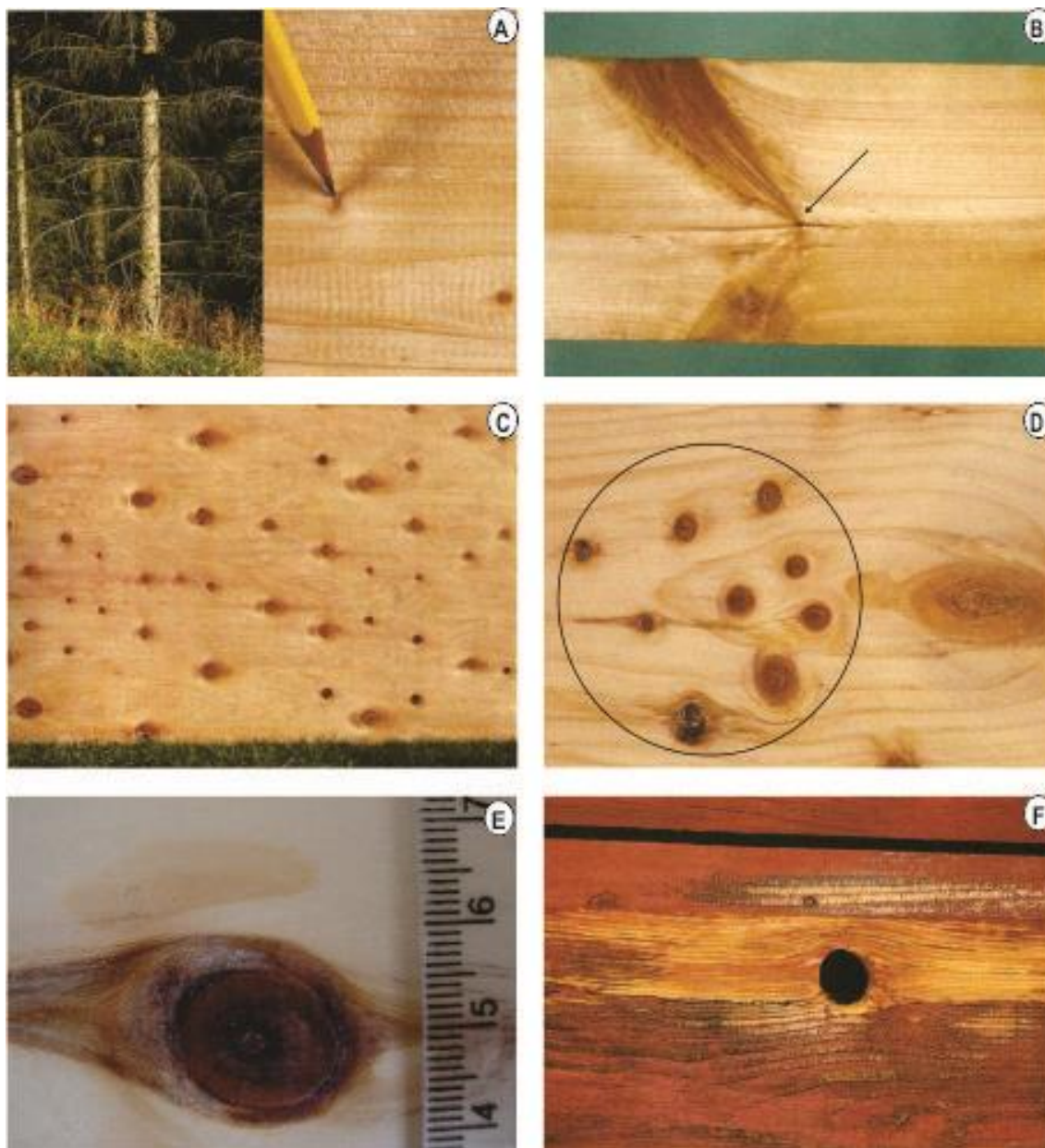
convergem para o mesmo ponto; quando dois ou mais nós são separados entre si por traqueídes desviadas da direção da grã é considerado grupo de nó e quando os nós estão posicionados próximos, de forma que não seja possível a identificação visual das traqueídes entre os nós, denomina-se feixe de nós. O nó é denominado firme quando se mantém aderido à madeira, enquanto nó solto é aquele que se desprende da madeira após o processo de secagem; quando o nó é observado parcialmente deteriorado, seja por agentes biológicos ou por injúria mecânica, ele é denominado nó cariado e, se observa um orifício na madeira provocado pela queda de um nó, este orifício é denominado nó vazado. A quantificação de nós em uma peça de madeira serrada é dada percentualmente, em relação à largura real por metro de comprimento da peça, considerando a soma de todos os diâmetros de nós ocorrente na peça e a fórmula aplicada para esse cálculo é: Quantificação de nós (%) =  $((x1 + x2 + x3 + x4 + x5) / (L1 * l1)) * 100$ ; onde  $x1 + x2 + x3 + x4 + x5$  = diâmetro dos nós;  $L1$  = comprimento real da peça e  $l1$  = largura real da peça (RALL, 2010).

A NBR 14806 (ABNT 2002), norma de classificação para madeira serrada de eucalipto, delimita a aceitação de nós em quatro classes distintas, segundo características específicas que estes (os nós) apresentem em relação às peças. Em peças de madeira considerada de primeira classe, em que apenas o método de classificação visual não é considerado suficiente (ABNT/1997), não se admite a existência de qualquer tipo de nó. Para peças de madeiras de segunda classe é admitida a presença de apenas um nó em uma das faces da peça, desde que esse tenha diâmetro inferior a 25 mm, mesma coloração da madeira e seja firme. Para peças de terceira, nós aderidos firmemente são admissíveis na mesma seção, mesmo que apresentem coloração diferente da madeira e formato tipo gravata; não podendo, no entanto, ocorrer nós que ultrapassem ambos os lados da peça. A quarta classe de peças de madeira pode apresentar nós dos tipos cariados, soltos ou até vazados, desde que tenham até 25 mm de diâmetro e quantidade máxima de um nó por metro de peça. Já nas peças de madeira consideradas de quinta classe todos os tipos de nós são admitidos, desde que, assim como para outros tipos de defeitos, não inviabilizem a utilização da madeira.

Para facilitar a classificação, apesar da origem similar (GAVA, 2005) alguns mercados determinam nomenclaturas específicas e a unificação de critérios para

os tipos de nós que ocorrem na madeira. O Eurocódigo 5 (Design of timber structures), que rege a utilização da madeira como elemento estrutural na União Européia, classifica os nós segundo a sua dimensão, em nós pequenos, nós médios e nós grandes; segundo o estado de conservação da madeira que os envolve, em nós sãos e nós podres; segundo o estado de aderência da madeira circundante a eles, em nós aderentes e nós soltos (MARTINS, 2010). As normas espanholas, em conformidade com Eurocódigo 5, porém mais detalhada, descrevem os nós de acordo com seu formato, coloração e estado patológico. Nós em folha ou alargados são nós que aparecem de forma completa na peça, porém, alargados ou espalhados. Nó redondo e nó em espiga são alargados no canto da face, sendo o mesmo observado na extremidade da outra face da peça. De acordo com a classificação visual da coloração podem ser claros, escuros e avermelhados; segundo o estado patológico, classificam-se principalmente em sadio, resinoso e podre e de acordo com a disposição e o posicionamento nas peças serradas, são denominados: dispersos – aqueles que se encontra em distâncias superiores à sua largura de outros nós; agrupados – nós que se encontram juntos em uma mesma região e nós ramificados – quando se originam de um mesmo verticilo, ou se encontra em combinação com outros nós (FOELKEL, 2009; NORMAS ESPANHOLAS, s/d). Nas normas mexicanas (NMX-C-409-ONNCCE-1999: “Norma Mexicana de Classification Visual de Maderas Latifoliadas para Usos Estructurales”), o nó é considerado saudável, quando se encontra aderido na peça de madeira de forma a não se desprender durante processos de secagem ou uso das peças. Para essa classificação o nó não pode apresentar rachaduras ou qualquer indício de apodrecimento. Nó “oco” é aquele que possui continuidade com o tecido da madeira circundante e se desprende com facilidade quando a madeira é serrada e nós agrupados são aqueles que compartilham o mesmo tecido com desvio de fibras (MARTÍN *et al.*, 2002).





**Figura 1.4:** Fotos A, B, C, F: Randy O'Rourke, modificado (HOADLEY, 2000). E: acervo pessoal. (A) *Pinus silvestris* com elevada inserção de galhos e detalhe de nó; (B) Nó tipo gravata; (C) nós dispersos; (D) conjunto de nó considerado como um só nó; (E) nó de coloração avermelhada em *P. elliotii* (F) Nó vazado.

## 1.5 TECNOLOGIAS PARA DETECÇÃO DE NÓS

O conhecimento profundo dos nós e a compreensão do seu comportamento, assim como das fibras de madeira em seu entorno, quando expostos a uma carga, é extremamente importante para o desenvolvimento de métodos mais precisos de classificação de capacidade de resistência da madeira

(OSCARSSON *et al.*, 2012). Para atender o mercado, pesquisadores buscam ferramentas e métodos para identificação e localização dos nós ao longo de toras e peças serradas que facilitem a classificação de peças de madeira, uma vez que, mesmo profissionais treinados tendem a reduzir eficiência e precisão de inspeção a menos de 70%, quando submetidos a longas horas de avaliação de peças de madeira (MOHAN *et al.*, 2014).

Dependendo do tamanho, forma e disposição dos nós, certas propriedades mecânicas podem permanecer inalteradas ou mudar significativamente (LUKACEVIC e FÜSSL, 2014). Desta forma, o conhecimento do tamanho, da distribuição e o ângulo de inclinação dos nós são de importância fundamental para a avaliação da qualidade da tora e do grau de rendimento da madeira serrada. Partindo deste princípio, pesquisas têm sido realizadas para encontrar tecnologias não-destrutivas que permitam avaliações precisas de defeitos internos, incluindo dentre essas a modelagem geométrica de nós (AUDREU e RINNHOFFER, 2003; LONGUETAUD *et al.*, 2012). Raios gama, tomografia computadorizada, ressonância magnética nuclear, microondas, ultra-som, vibrações e ondas de tensão longitudinal estão entre as técnicas utilizadas para o monitoramento dos nós ao longo de toras. Dentre essas técnicas o Raio-X tem sido identificado como uma das mais promissoras para a captura e visualização de imagem da estrutura interna de troncos (AUDREU e RINNHOFFER, 2003).

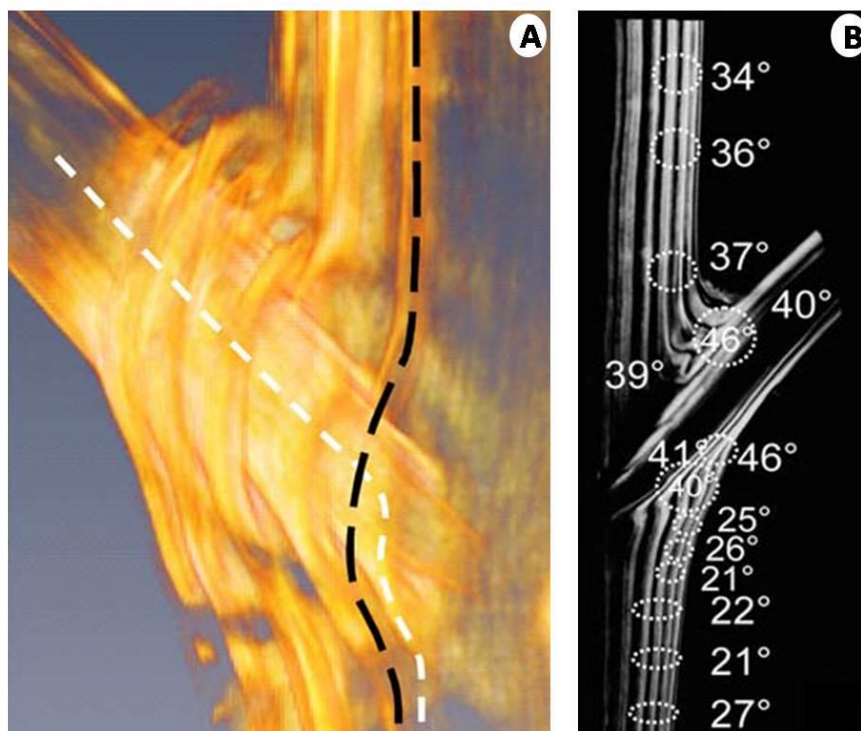
Em estudo de caracterização de nós para o Pinheiro branco (*Picea glauca* (Moench) Voss; Pinaceae) imagens de tomografia computadorizada associadas a um software de mapeamento de nó permitiram caracterizar a forma, o número, o diâmetro e a inclinação, além da distribuição dos nós no interior do tronco das árvores (TONG *et al.*, 2013). Em povoamento com 32 anos de idade foram encontrados mais de 24 nós a cada 2,0 cm de aumento de diâmetro do fuste. Maior frequência de nós foi observada à medida que se aumentava a altura de retirada da tora. Mas a proporção do volume do nó - em relação ao volume total de madeira da tora em que estava contido - foi menor em toras retiradas mais próximas ao DAP (diâmetro a altura do peito). Ainda utilizando tomografia computadorizada, foi possível modelar nós em 3D, obter uma elevada taxa de detecção de nós com um diâmetro de, ao menos, 10 mm ao longo do fuste, e calcular o ponto de intersecção do nó com o plano de corte correspondente a cada face da tora onde estavam inseridos (AUDREU e RINNHOFFER, 2003).

Classificações automatizadas, reconstituição computadorizada da madeira e estudos de rendimento de toras foram potencializados a partir da aplicação de um programa de simulação por computador desenvolvido para estudar formas de nós numa variedade de planos de observação. A partir do programa, um modelo geométrico derivado permite descrever nós em troncos e na superfície de vigas de madeira serrada, onde cada nó foi definido por sete parâmetros relacionados com a forma e posição no tronco (SAMSON, 1993). Grundberg e Grönlund (1997) e Oja (1999), citado por Audre e Rinnhofer, (2003) desenvolveram e aprimoraram um modelo computacional a partir de três parâmetros de avaliação (diâmetro do nó, posição tangencial e longitudinal), onde descrevem o nó em função da distância radial à medula.

O campo de deformação em torno do nó e o comportamento mecânico da junção entre ramo e o tronco submetidos a variações de carga de tensão foram avaliados por correlação de imagens digitais (OSCARSSON *et al.*, 2012). Neste estudo, foi possível quantificar cargas necessárias para a ruptura de fibras desde a medula do nó; identificar formas específicas de nós responsáveis por iniciar rachaduras em peças de madeira; além de mudanças bruscas de tensão a partir do crescimento das rachaduras que levou à liberação de tensões internas presentes tanto no nó como no entorno. Foi demonstrado que tensões impostas na direção longitudinal podem não ser transferidas através do nó; a direção das fibras nas imediações do nó desvia consideravelmente a partir da direção da carga aplicada e análises de comportamento mecânico de rachadura de nós em peças de madeira, são modelos relevantes para o desenvolvimento de métodos mais precisos de classificação de resistência com base em informações digitalizadas.

A tecnologia de Raios-X associada à tomografia computadorizada foi utilizada para avaliar o papel da densidade da madeira e do ângulo de microfibrilas na adaptação mecânica de regiões de cruzamentos entre o ramo e o tronco. Tanto a densidade como o ângulo das microfibrilas (Figura 1.5) apresenta variação para adaptar-se localmente e proporcionar maior rigidez ou flexibilidade, criando um padrão de proteção contra tensões provenientes do tronco e cargas dinâmicas oriundas do ramo. Deformações na base do ramo foram criadas antes que forças fossem transmitidas, a fim de evitar uma possível fratura. Foi demonstrado, ainda, que os valores mais elevados de ângulo de microfibrila estão associados à maior

resistência em tecido de alta densidade e flexibilidade em tecido com baixa densidade e que o aumento de densidade no tecido de interface fornece rigidez tanto no sentido das traqueídes (em direção ao ramo) como na direção perpendicular (em relação ao eixo do caule) (JUNGNIKL *et al.*, 2009).



**Figura 1.5:** (A) Tomografia computadorizada da junção ramo/tronco, mostrando a variação da densidade ao longo do ramo (tracejado branco) e do tronco (tracejado preto) (JUNGNIKL *et al.*, 2009). (B) distribuição de densidade e ângulo de microfibrilas na zona de junção entre ramo e tronco e regiões próximas (modificado de JUNGNIKL *et al.*, 2009).

## 1.6 MÉTODOS PARA REDUÇÃO DA OCORRÊNCIA DE NÓS

Com o objetivo de reduzir a incidência de nós, mantendo um volume de madeira economicamente competitivo em toras para a indústria madeireira de laminados e serraria, algumas técnicas de manejo são propostas (VIEIRA *et al.*, 2010). Dentre as técnicas silviculturais, o espaçamento do plantio tem papel fundamental na incidência de nós. O espaçamento ideal é aquele capaz de fornecer o maior volume de madeira, com forma adequada ao processamento e com qualidade desejável do produto final (MACEDO *et al.*, 2005). Espaçamentos

amplos, com 3 x 4 m (SCOLFORO *et al.*, 2001) e 3 x 3,75 m (BALLONI e SIMÕES, 1980), por exemplo, induzem ao maior aparecimento de nós (SANQUETTA *et al.*, 2003) uma vez que permitem o livre crescimento da copa. Esse crescimento está diretamente relacionado à maior incidência de luz, menor competição por água e nutrientes e a livre ação dos fatores genéticos e hormonais inerentes a cada espécie (LEITE *et al.*, 2005). Com espaçamentos maiores o crescimento do galho não é limitado ou interrompido pela redução da incidência de luz, causada por outros galhos, por exemplo; além do atraso na redução do incremento do ramo, ocorre aumento da longevidade dos mesmos (MÄKINEN, 1999). Em indivíduos distribuídos em espaçamentos maiores, os nós são majoritariamente vivos, com diâmetro grande, fibras circundantes distorcidas com grã transversal e descontinuidades que levam a concentração de tensões que, frequentemente, provocam fendas durante o processo de secagem (PONCE, 1984). Apesar da maior incidência de nós em espaçamentos mais amplos, os nós formados nessa condição, dificilmente terão características (circunferência, grã, inclinação) semelhantes (TONG *et al.*, 2013).

A altura de inserção do primeiro galho também constitui fator relevante para a indústria de processamento mecânico e é igualmente influenciada pelo espaçamento do plantio. Quanto menor a densidade de um plantio, menor será a altura de inserção dos primeiros galhos e menor a porção volumétrica de madeira livre de nós (SANQUETTA *et al.*, 2003). As duas primeiras toras de um tronco podem apresentar entre 4,0 e 13,0% do volume total de madeira em forma de nó, com esse percentual aumentando progressivamente à medida que aumenta a altura do tronco (ROSSO e NININ, 1998). Haja vista estar nas primeiras toras a maior densidade de volume da madeira (EVANS, 1992; COUTO, 1995), quanto mais livre de nós, melhor a trabalhabilidade, melhores as propriedades de resistência e maiores os rendimentos das peças com diâmetros mais elevados. A influência do nó na resistência de peças estruturais está diretamente relacionada ao seu tamanho em relação à seção transversal da peça (BAMBER e BURLEY, 1983) e ao ângulo de inclinação do nó, que é variável em relação ao eixo principal (TONG *et al.*, 2013); sendo preferível a ocorrência de nós pequenos, mesmo que mais frequentes (CHIES, 2005). Quanto menor o ângulo de inserção do galho, menores as cargas aplicadas às zonas de transição (ramo/tronco) e menores os riscos de cisalhamento nessa região. Um ângulo de 45° resulta em distribuição

uniforme da carga axial estática gerada a partir do peso do ramo e transferida para o tronco principal (JUNGNIKL *et al.*, 2009).

Para a redução da frequência e do diâmetro dos nós e melhoria na qualidade da madeira, considerando esses aspectos para diversas espécies, o menor espaçamento do plantio assim como podas sistemáticas devem ser considerados (SANQUETTA *et al.*, 2003). Poda ou desrama é a retirada de ramos inferiores vivos, que consomem muito produto fotossintético na respiração com pouca contribuição para fotossíntese (SCHNEIDER *et al.*, 1999) e ramos secos e parasitados, que podem levar à formação de bolsões e fendas na madeira (FIGUEIREDO *et al.*, 2005).

Por aumentar o custo de produção a desrama artificial é utilizada quando o rendimento do talhão compensa os custos operacionais, devendo ser feita o mais cedo possível, em função do desenvolvimento da planta e enquanto os ramos são pequenos e vivos (MONTAGU *et al.*, 2003). Nessas circunstâncias o rendimento de madeira livre de nós pode atingir um percentual de até 94% mais alto, quando comparado a indivíduos que não sofreram desrama (POLLI *et al.*, 2006). Espaçamentos reduzidos - 1,0 x 1,0 m (GOULART *et al.*, 2003), estimulam a desrama natural (CHIES, 2005) por inibir a emissão de gemas e limitar a formação de galhos além de favorecerem a maior concentração de nós na madeira juvenil (REMADE, 2005).

A obtenção de árvores com maiores alturas de inserção do primeiro galho é um dos objetivos de plantios destinados ao processamento mecânico. Mas, árvores com maiores diâmetros também são requisitos e como tais características são obtidas de maneira antagônica, a aplicação de espaçamento intermediário, 2,5 x 2,8 m, por exemplo, é indicada como a melhor forma de atender a ambos (SANQUETTA *et al.*, 2003).

Plantações de boa qualidade com mudas ou sementes de boa procedência e características genéticas desejáveis pré-selecionadas, tratamentos silviculturais adequados e podas sistemáticas resultam, além do incremento da taxa de crescimento global dos indivíduos, na produção de toras de madeira sem nós (ALAZARD, 1996). Em regime de poda intensiva, dependendo da rotação aplicada ao talhão, o fuste de um indivíduo pode render mais de 40% do volume total de madeira sem nós, com esse percentual podendo atingir mais de 60% do volume comercial de uma árvore (VÍQUEZ e PÉREZ, 2005). Por outro lado, para

minimizar os custos dessa prática silvicultural, seria necessário manter uma densidade mínima que favoreça a desrama natural, não permitindo a expansão e a longevidade dos galhos (SANQUETTA *et al.*, 2003).

## 1.7 REFERÊNCIAS

ABREU, H.; MAÊDA, J.; LATORRACA, J.; PEREIRA, R.; MONTEIRO, M.B.; ABREU, F.; CARMO, J. Proposta de Modificação da Biossíntese da Lignina como Estratégia para Correção de Defeitos em Madeiras. **Silva Lusitana**, v.11, p. 217 - 225, 2004.

AGUIAR, A. V.; VALDARES, A. S.; SHIMIZU, J. Y. Cultivo de Pinus, **Sistemas de Produção**, n. 5, Embrapa Florestas, 2011.

ALAZARD, P. The effect of pruning intensity on growth: branching characteristics of maritime pine. **Information Forêt**, v. 532, n. 3, 6 p. 1996.

AMATA. **Mercado Florestas Plantadas**. 55 p. 2009. Disponível em: [www.amatabrasil.com.br/download-arquivo?id=588](http://www.amatabrasil.com.br/download-arquivo?id=588). Acesso em: 15 jun. 2013.

ASOCIACIÓN DE INVESTIGACIÓN TÉCNICA DE LAS INDUSTRIAS DE LA MADERA. **Normas Españolas para madera aserrada**. 5 p. Madrid, 1970.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12.297 (NB-1381)**: madeira serrada de coníferas provenientes de reflorestamento, para uso geral: medição e quantificação de defeitos. Rio de Janeiro, 1991. 6 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12.551**: madeira serrada: terminologia. Rio de Janeiro, 2002. 10 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 7190**: projeto de estrutura de madeira. Rio de Janeiro, 1997. 3 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS. **Anuário estatístico ABRAF 2013, ano base 2012 / ABRAF**. Brasília, 2013. 148 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE MADEIRAS. **Pinus**: catálogo de normas de madeira serrada. Curitiba, 2001. 34 p.

AUDREU, J. P.; RINNHOFFER, A. Modeling knot geometry in Norway Spruce from industrial C T images. **Computer Science**, v. 2749, p. 786-791, 2003.

BALLONI, C. J. V. **Caracterização física e química da madeira de *Pinus elliottii***. 41 p. (Monografia) - Engenharia Industrial Madeireira, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Itapeva, 2009.

BALLONI, E. A.; SIMÕES, J. W. O espaçamento de plantio e suas implicações silviculturais. Piracicaba: Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais. **Série Técnica**, v. 1, n. 3, 16 p, 1980.

BAMBER, R. K.; BURLEY, J. **The wood properties of radiata pine**. Commonwealth Agricultural Bureaux, 84 p. 1983.



BOYER, W. D. Regenerating the natural longleaf pine forest. **Journal of Forestry**, v. 77, n. 9, p. 572-575, 1979.

BRACELPA. Associação Brasileira de Celulose e Papel. **Pinus**. Disponível em: <<http://bracelpa.org.br/bra2/?q=en/node/137>>. Acesso em 14 jan. 2013.

BUKSNOWITZ, C.; HACKSPIEL, C.; HOFSTETTER, K.; MÜLLER, U.; GINDL, W.; TEISCHINGER, A.; KONNERTH, J. Knots in trees: strain distribution in a naturally optimised structure. **Wood Science and Technology**, v. 44, p. 389-398, 2010.

CADEMARTORI, P. H. G.; GATTO, D. A.; STANGERLIN, D. M.; SCHNEID, E.; HAMM, L. G. Qualidade da madeira serrada de *Pinus elliottii* Engelm. procedente de florestas resinadas. **Cerne**, v. 18, n. 4, p. 577-583. 2012.

CARREIRA, M. R. **Critérios para classificação visual de peças estruturais de *Pinus sp.*** 181 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Estruturas) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.

CARREIRA, M. R.; DIAS, A. A. Classificação visual de coníferas: análise da aplicação do método norte-americano às espécies de *Pinus sp* plantadas no Brasil. **Scientia Forestalis**, n. 67, p.78-87, 2005.

CHIES, D. **Influência do espaçamento sobre a qualidade e o rendimento da madeira serrada de *Pinus taeda* L.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

COUTO, H, T. Z. Manejo de florestas e sua utilização em serraria. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE UTILIZAÇÃO DA MADEIRA DE EUCALIPTO PARA SERRARIA, 1995, Pretoria. **Anais...** Pretoria, 1995.

EVANS, J. **Plantation forestry in the tropics**. 2 Ed., New York, Oxford, 403p. 1992.

EVERT, R. F. **Anatomia das plantas de Esau: meristemas, células e tecidos do corpo da planta: sua estrutura, função e desenvolvimento**. Blucher, 726 p. 2013.

FERREIRA, A. T. B. **Caracterização da estrutura anatômica do lenho, dos anéis de crescimento e dos canais de resina de árvores de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* Barr. et Golf**. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

FIGUEIREDO, E. O.; OLIVEIRA, L. C., BARBOSA, L. K. F. Teca (*Tectona grandis*): principais perguntas do empreendedor florestal. 87 p. Embrapa Acre **Documentos**, 97, Rio Branco, 2005.

FOELKEL, E. Defeitos intrínsecos mais comuns nas toras e madeiras de *Pinus* sem beneficiamento. **Pinus Letter**, n. 15. 2009. Disponível em: <<http://www.celso-foelkel.com.br/pinus>>. Acesso em: 05 set. 2013.

FOLEY, C. A three-dimensional paradigm of fiber orientation in timber. **Wood Science and Technology**, v. 35, p. 453-465, 2001.

GAVA, M. **Método da Thin-plate spline - TPS aplicado ao estudo das deformações específicas de retração ( $\epsilon_r$ ) da madeira de *Eucalyptus urophylla*, *E. saligna* e *E. urograndis***. 118 p. Tese (Doutorado em Recursos Florestais) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

GAVA, M. **Viabilidade técnica e econômica da produção de componentes construtivos para habitação social utilizando madeira serrada de pinus de terceira classe de qualidade**. 233 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia do Ambiente Construído) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.

GOULART, M.; HASELEIN, C. R.; HOPPE, J. M.; FARIAS, J. A.; PAULESKI, D. T. Massa específica básica e massa seca de madeira de *Eucalyptus grandis* sob o efeito do espaçamento de plantio e da posição axial no tronco. **Ciência Florestal**, v. 13, n. 2, p. 167-175, 2003.

GRUNDBERG, S.; GRÖNLUND, A. Simulated grading of logs with an x-ray log scanner-grading accuracy compared with manual grading. **Scandinavian Journal of Forest Research**, v. 12, n.1, p. 70-76, 1997.

HOADLEY, R. B. **Understanding wood: a craftsman's guide to wood technology**. The Taunton Press, 293 p, 2000.

HOLMBOM, B.; ECKERMAN, C.; EKLUND, P.; HEMMING, J.; NISULA, L.; REUNANEN, M.; SJÖHOLM, R.; SUNDBERG, A.; SUNDBERG, K.; WILLFÖR, S. Knots in trees – A new rich source of lignans. **Phytochemistry Reviews**, n. 2, p. 331-340, 2003.

INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS. **Informações sobre madeiras**, 2014. São Paulo. Disponível em: <[http://www.ipt.br/informacoes\\_madeiras3.php?madeira=7](http://www.ipt.br/informacoes_madeiras3.php?madeira=7)>. Acesso em: 15 jan. 2014.

JUNGNIKL, K.; GOEBBELS, J.; BURGERT, I.; FRATZL, P. The role of material properties for the mechanical adaptation at branch junctions. **Trees**, v. 23, n. 3, p. 605-610, 2009.

KAMM, A.; DOUDRICK, R. L.; HESLOP-HARRISON, J. S.; SCHMIDT, T. The genomic and physical organization of Tyl-copia-like sequences as a component of large genomes in *Pinus elliottii* var. *elliottii* and other gymnosperms. **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A**, v. 93, n. 7, p. 2708-2713, 1996.

KOLLMAN, F. F. P.; CÔTÉ, W. A. **Principles of wood science and technology: Solid wood**. New York, 592 p. 1968.

LAM, F.; BARRETT, J. D.; NAKAJIMA, S. Influence of knot area ratio on the bending strength of Canadian Douglas fir timber used in japanese post and beam housing. **Journal of Wood Science**, v. 51, n. 1, p. 18-25, 2005.

LAMPRECHT, H. **Silvicultura nos trópicos: ecossistemas florestais e respectivas espécies arbóreas - possibilidades e métodos de aproveitamento sustentado**. Rossdorf: TZ-Verlag-Ges, 1990. 343p.

LEITE, H. G.; NOGUEIRA, G. S.; CAMPOS, J. C. C.; SOUZA, A. L.; CARVALHO, A. Avaliação de um modelo de distribuição diamétrica ajustado para povoamentos de *Eucalyptus* sp. submetidos a desbaste. **Revista Árvore**, v. 29, n. 2, p. 271-280, 2005.

LONGUETAUD, F.; MOTHE, F.; KERAUTRET, B.; KRÄHENBÜHL, A.; HORY, L.; LEBAN, J. M.; DEBLED-RENNESON, I. Automatic knot detection and measurements from X-ray CT images of wood: A review and validation of an improved algorithm on softwood samples. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 85, p. 77-89, 2012.

LUKACEVIC, M.; FÜSSL, J. Numerical simulation tool for wooden boards with a physically based approach to identify structural failure. **European Journal of Wood and Wood Products**, v. 72, n. 4, p. 497-508, 2014.

MACEDO, R. L. G.; GOMES, J. E.; VENTURIN, N.; SALGADO, B. G. Desenvolvimento inicial de *Tectona grandis* L.f. (teca) em diferentes espaçamentos no município de Paracatu, MG. **Cerne**, v. 11, n. 1, p. 61-69, 2005.

MÄKINEN, H. Effect of stand density on radial growth of branches of Scots pine in southern and central Finland. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 29, n. 8, p. 1216-1224, 1999.

MARTÍN, M. H. C.; MOLINA, O. A.; GARCIA, M. A. Los defectos naturales em la madera aserrada. **Ingeniería Revista Académica**, v. 6, n. 1, p. 29-38, 2002.

MARTINS, T. F. R. M. **Dimensionamento de estruturas em madeira coberturas e pavimentos**. 165 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) - Instituto Superior Técnico, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2010.

MELO, D. R.; STANGERLIN, D. M.; MENEZZI, C. H. S. D.; DARCI A. GATTO, D. A.; CALEGARI, L. Caracterização física e mecânica da madeira de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 5, n. 1, p. 67-73, 2010.

MIOTTO, J. L.; DIAS, A. A. Avaliação dos critérios de dimensionamento para peças comprimidas e flexocomprimidas de madeira. **Cadernos de Engenharia de Estruturas**, v. 8, n. 33, p. 53-81, 2006.

MOHAN, S.; VENKATACHALAPATHY, K.; SUDHAKAR, P. Hybrid optimization for classification of the wood knots. **Journal of Theoretical and Applied Information Technology**, v. 63, n. 3, p. 774-780, 2014.

MONTAGU K. D.; KEARNEY, D.E.; SMITH, R. G. B. The biology and silviculture of pruning planted eucalypts for clear wood production - a review. **Forest Ecology and Management**, v. 179, p. 1-13, 2003.

MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A.; MELO, D. C. Análise da madeira de *Pinus oocarpa* parte I – estudo dos constituintes macromoleculares e extrativos voláteis. **Árvore**, v. 29, n. 3, p. 46-470, 2005.

NOGUEIRA, M. **Classificação de peças de madeira serrada de dimensões estruturais de *Eucalyptus* sp. com uso de ensaios não-destrutivos**. 120 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2007.

NUTTO, L.; TONINI, H.; BORSOI, G. A.; MOSKOVICH, F. A.; SPATHELF, P. Utilização dos parâmetros da copa para avaliar o espaço vital em povoamentos de *Pinus elliottii* Engelm. **Boletim de Pesquisa Florestal**, n. 42, p. 123-138, 2001.

OJA, J. **X-ray Measurement of Properties of Saw Logs**. 32 p. Thesis (Doutorado em \_\_\_\_\_) - Luleå University of Technology, Suécia, 1999.

OLDEMAN, R. A. A. Forests: Elements of silvology. **Springer-Verlag**, p. 216-222, 1990.

OSCARSSON, J.; OLSSON, A.; ENQUIST, B. Strain fields around knots in Norway spruce specimens exposed to tensile forces. **Wood Science and Technology**, v. 46, n. 4, p. 593-610, 2012.

PALERMO, G. P. M.; LATORRACA, J. V. F.; SEVERO, E. T. D.; NASCIMENTO, A. M.; RESENDE, M. A. Delimitação entre os lenhos juvenil e adulto de *Pinus elliottii* ENGELM. **Árvore**, v. 37, n. 1, p. 191-200, 2013.

PAUL, B. H. **Knots in second-growth pine and the desirability of pruning**. 35 p. United State Department of Agriculture, Miscellaneous Publication, n. 307, Washington, 1938.

PHELAN, M.; AHERNE, S. A.; WONG, A.; O'BRIEN, N. M. Bioactive properties of wood knot extracts on cultured human cells. **Journal of Medicinal Food**, v. 12, n. 6, p.1245-1251, 2009.

PHILLIPS, G. E.; BODIG, J.; GOODMAN, J. R. Flow-grain analogy. **Wood Science**, v. 14, n. 2, p. 55–65, 1981.

POLLI, H. Q.; REIS, G. G.; REIS, M. G. F.; VITAL, B. R.; PEZZOPANE, J. E. M.; FONTAN, I. C. I. Qualidade da madeira em clone de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden submetido a desrama artificial. **Revista Árvore**, v. 30, n. 4, p. 557-566, 2006.

PONCE, R. M. Produção de madeira de qualidade para processamento mecânico. **Silvicultura**, v. 9, n. 34, p. 9-34, 1984.

RALL, R. **Processamento de imagens digitais para detecção e quantificação de defeitos na madeira serrada de coníferas de reflorestamento de uso não estrutural**. 126 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2010.

REMADE. Madeiras tropicais para uso estrutural. **Revista da Madeira**, n. 87. 2005. Disponível em <[http://www.remade.com.br/br/revistadamadeira\\_materia.php?num=693](http://www.remade.com.br/br/revistadamadeira_materia.php?num=693)>. Acesso em: 05 set. 2013.

RICKLEFS, R. E. **A economia da natureza**. Guanabara Koogan, 503 p. 2003.

ROSSO, F.; NININ, P. Variabilidad de los defectos de trozas de la especie teca (*Tectona grandis*) en diferentes densidades arbóreas, en la Unidad Experimental de la Reserva Forestal de Ticoporo, Barinas-Venezuela. **Revista Florestal Venezolana**, v. 42, n. 2, p. 103-112, 1998.

SAHLBERG, U. Influence of knot fibers on TMP properties. **Tappi journal**. V. 78, n. 5, p.162-168, 1995.

SAMSON, M. Modelling of knots in logs. **Wood Science and Technology**, v.27. p. 429-437, 1993.

SANQUETTA, C. R.; ARCE, J. E.; MELLO, A. A.; SILVA, E. Q.; FILHO, N.B.; MATOSKI, S. L. S. Produção de madeira livre de nós em povoamentos de *Pinus taeda* em função da densidade de plantio. **Cerne**, v. 9, n. 2, p. 129-140, 2003.

SCHNEIDER, P. R.; FINGER, C. A. G.; HOPPE, J. M. Efeito da intensidade de desrama na produção de *Pinus elliottii* Engelm., implantado em solo pobre, no estado do Rio Grande do Sul. **Ciência Florestal**, v. 9, n. 1, 1999.

SCOLFORO, J. R. S.; JÚNIOR, F. W. A.; OLIVEIRA, A. D.; MAESTRI, R. Simulação e avaliação econômica de regimes de desbastes e desrama para obter madeira de *Pinus taeda* livre de nós. **Ciência Florestal**, v. 11, n. 1, p. 121-139, 2001.

SHIGO A. L. How tree branches are attached to trunks. **Canadian Journal of Botany**, n. 63, v. 8, p.1391-1401, 1985.

SZÜCS, C. A.; TEREZO, R. F.; VALLE, A.; MORAES, P. D. **Estruturas de madeira**. 146 f. Apostila (Departamento de Engenharia Civil) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

TONG, Q.; DUCHESNE, I.; BELLEY, D.; BEAUDOIN, M.; SWIFT, E. Characterization of knots in plantation white spruce. **Wood and Fiber Science**, n. 45, p. 84-97, 2013.

TROPICOS.ORG. **Missouri Botanical Garden**. Disponível em <<http://www.tropicos.org>>. Acesso em: 22 jun. 2014.

VIEIRA, A. H.; ROCHA, R. B.; LOCATELLI, M.; BENTES-GAMA, M. M. Influência da desrama artificial sobre o crescimento da teca (*Tectona grandis*) no Estado de Rondônia. **Circular Técnica**, n. 114, Embrapa. Rondônia, 2010.

VÍQUEZ, E. & PÉREZ, D. Effect of pruning on tree growth, yield, and wood properties of *Tectona grandis* plantations in Costa Rica. **Silva Fennica**, v. 39, n. 3, p. 381-390, 2005.

WANG, X.; MA, J.; YANG, Q. Experimental research and finite element analysis on mechanical properties of pre-stressed laminated strand lumber. **Journal of Building Structures**, v. 34, p. 149-157, 2013.

WEBB, D.B., WOOD, P.J. AND SMITH J. **A Guide to Species Selection for Tropical and Sub-Tropical Plantations**. Oxford, 344 p. 1980.

ZHANG, S. Y.; CHAURET, G.; SWIFT, D. E.; DUCHESNE, I. Effects of precommercial thinning on tree growth and lumber quality in a jack pine stand in New Brunswick, Canada. **Canadian Journal of Forest Research**, n. 36, p. 945-952, 2006.

ZHONG, Y.; REN, H.; LOU, W.; LI, X. The effect of knots on bending modulus of elasticity of dimension Lumber. **Key Engineering Materials**, v. 517, p. 677-682, 2012.

## **CAPÍTULO 2**

### **2 - CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA DE NÓS EM *Pinus elliottii* var. *elliottii***

## 2.1 INTRODUÇÃO

No processo de formação da madeira suas células passam por estágios de desenvolvimento que compreendem a divisão celular, a diferenciação, a maturação e a morte celular. Em cada um destes ocorre influência de fatores genéticos, silviculturais e climáticos, que provocam variações dimensionais e químicas tornando a madeira um material heterogêneo, com grande variedade entre indivíduos de mesma espécie e dentro de um mesmo indivíduo (ZOBEL e BUIJTENEN, 1989) a qual permite a utilização para os mais variados fins, mas, ao mesmo tempo, torna-se um inconveniente quando se pretende utilizá-la como matéria-prima para produtos específicos (SHIMOYAMA, 2005).

As madeiras são classificadas como madeira de coníferas e madeira de folhosas. Os dois tipos possuem diferenças estruturais básicas, mas a madeira das coníferas é mais simples e mais homogênea, com sistema axial constituído principalmente ou inteiramente por traqueídes que, apresentam quatro parâmetros fundamentais a serem medidos: comprimento, diâmetro total, diâmetro do lume e espessura da parede (EVERT, 2013). Entre os anatomistas, existe uma divergência quanto ao emprego do termo que nomeia o principal elemento de formação do sistema axial das coníferas. Alguns preferem o termo traqueíde ou traqueídeo, enquanto outros elegem traqueóide, por considerarem que está mais de acordo com a etimologia da palavra em português e que traqueíde é uma tradução direta da língua inglesa (APEZZATO-DA-GLÓRIA e CARMELLO-GUERREIRO, 2003). Neste trabalho será utilizado o termo traqueíde por ser mais frequente nos livros e artigos de anatomia consultados.

A heterogeneidade da madeira, assim como sua constituição química e anatômica é amplamente pesquisada. A madeira de compressão, por exemplo, comprovadamente influente nas propriedades tecnológicas do produto madeireiro apresenta elevados teores de lignina e fibras com acentuado desvio de grã. Essas características também estão presentes na madeira do nó e em suas regiões circunvizinhas. No entanto, a comparação entre ambas (madeira de compressão e de nó) pode apresentar limitações. Os fatores de formação, como teores de auxina, são requisitados de forma diferenciada para a formação da madeira de compressão e do ramo, o qual origina o nó. O lenho de compressão em coníferas se forma em regiões com elevadas concentrações de auxina (SUNDBERG *et al.*,



1994), enquanto que para a formação do ramo é requerida pela árvore, justamente a situação contrária; na qual o afastamento ou remoção da zona produtora de auxina (região apical e folhas jovens), libera os mecanismos de indução dos ramos. Nesse contexto o objetivo proposto para este capítulo é comparar as traqueídes de regiões de nós, com traqueídes de madeira normal (livre de nós). As hipóteses levantadas para o estudo são:

1 - Existe um gradiente ao longo do tronco nos parâmetros de desenvolvimento das traqueídes (Comprimento total, Diâmetro total, Diâmetro do lume e Espessura da parede) que diminui em direção ao ápice da planta;

2 - Traqueídes de nós, apesar do menor tamanho, têm crescimento proporcional ao observado na madeira livre de nó.

## 2.2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.2.1 Propriedades das traqueídes

Traqueídes são células imperfuradas mais ou menos alongadas, de paredes secundárias lignificadas, mortas na maturidade, que apresentam pares de pontoações, simples ou areoladas, em suas paredes adjacentes. Os pares de pontoação areoladas traqueídes de coníferas possuem estrutura particular e elaborada (HACKE *et al.*, 2004). Nas traqueídes grandes do lenho inicial com paredes relativamente delgadas, esses pares de pontoações são circulares e as aréolas compreendem uma cavidade conspícua. No centro da membrana de pontoação há um espessamento, o toro (plural: toros), que é mais largo em diâmetro do que a abertura da pontoação. O toro é circundado pela porção delgada da membrana de pontoação, a margem ou margo, e consiste de feixes de microfibrilas de celulose. A estrutura aberta do margo é resultante da remoção da matriz não celulósica da parede primária e lamela média durante a maturação da célula. Entre pares de pontoações podem ocorrer um espessamento da lamela média e parede primária, denominado crássula (EVERT, 2013).

As traqueídes são responsáveis tanto pela condução de substância como pelo suporte nas gimnospermas, medem de 2 a 5 mm, com suas extremidades se sobrepondo às de outras traqueídes (ALONI, 2013), as quais podem ser curvadas e ramificadas decorrentes do crescimento intrusivo. O parênquima axial e as células epiteliais podem ou não estar presente no lenho das coníferas, sendo restritas àquelas associadas aos canais de resina (EVERT, 2013).

A madeira do *Pinus elliottii* é formada principalmente por traqueídes longas (VIDAURRE *et al.*, 2011). Shimoyama e Wiecheteck (1993) encontraram valor de 4,56 mm no comprimento das traqueídes de *Pinus patula var tecunumanii* com 12 anos de idade. Palermo *et al.*, (2013) usando a variação radial do comprimento das traqueídes como parâmetro de delimitação das zonas de madeira juvenil, de transição e adulta de *Pinus elliottii*, encontraram valores de 3,6 mm para comprimento médio das traqueídes em árvores de até 7 anos e valores de 4,7 mm para comprimento médio das traqueídes para árvores de 7 a 23 anos. Segundo estes autores, os valores passaram a ser constantes, com média de 5,0

mm de comprimento das traqueídes, a partir de 23 anos para a espécie estudada. O comprimento das traqueídes é influenciado diretamente pela idade da árvore e com o passar dos anos, as células cambiais passam a produzir células com maiores dimensões até atingirem a estabilização a partir de certa idade (SHIMOYAMA, 2005). Alguns autores afirmam que, no sentido axial, as espécies do gênero *Pinus* tendem a apresentar um aumento do comprimento das traqueídes até cinquenta por cento do tronco, decrescendo à medida que se aproximam da copa (MENDONÇA, 1982; MUÑIZ, 1993). Outros autores afirmam que a madeira da base apresenta elementos de menor comprimento, pouco diâmetro e espessuras mais finas, ao passo que a madeira do meio da árvore apresenta os maiores incrementos destes elementos. Souza *et al.* (2005) analisando parâmetros anatômicos das traqueídes axiais das madeiras de quatro procedências de *Pinus* verificaram que, dependendo da procedência, o incremento de comprimento pode apresentar valor linear crescente da base em direção ao topo, com maiores traqueídes observados na seção correspondente à altura do topo. Parâmetros de diâmetro do lume e espessura da parede podem se revelar constantes ao longo do tronco, enquanto o diâmetro total das traqueídes pode variar de forma irregular, apresentando maiores valores, hora na base, hora no topo (SOUZA *et al.*, 2005). Segundo Ballarin e Palma (2003) as traqueídes são mais curtas na região de madeira juvenil que na madeira adulta, e muito mais curtas perto da medula, aumentando rapidamente na zona de madeira juvenil em direção à casca; sendo a mudança no comprimento na zona adulta muito pequena. Para Bailey (1953), o diâmetro das traqueídes aumenta dos ramos para os caules e em direção às raízes. Zimmermann e Potter (1982) afirmam que tanto o diâmetro quanto o comprimento dos elementos traqueais aumentam gradualmente a partir dos ramos menores para os ramos maiores e em direção ao caule e raízes. Bendtsen e Sentf (1986), citados por Ballarin e Palma (2003) afirmam que o comprimento das traqueídes pode atingir uma estabilidade antes da espessura da parede celular. Esses autores afirmam que o crescimento das traqueídes está diretamente relacionado a fatores genéticos, ambientais e silviculturais. O diâmetro radial e a espessura da parede celular variam de forma independente e são controlados por processos fisiológicos diferentes dentro da copa. Para o autor, a divisão das células mãe do câmbio e a expansão radial respondem a sinais hormonais emitidos a partir de novos brotos e folhas da

porção superior da copa, enquanto a espessura da parede secundária é dependente da produção fotossintética da folhagem dos ramos mais velhos das porções médias e inferiores da copa (KOCH, 2004). Enquanto os altos níveis de auxina próximos às folhas jovens induzem vasos estreitos, devido à rápida diferenciação; baixas concentrações de auxinas induzem uma lenta diferenciação, com maior expansão antecedendo a deposição da parede celular, gerando conseqüentemente, elementos mais largos (SHIMOYAMA, 2005; EVERT, 2013). Shimoyama e Wiecheteck (1993) encontraram paredes das traqueídes com espessura de 10,0  $\mu\text{m}$ , o que indica elementos de paredes espessas e muito rígidas.

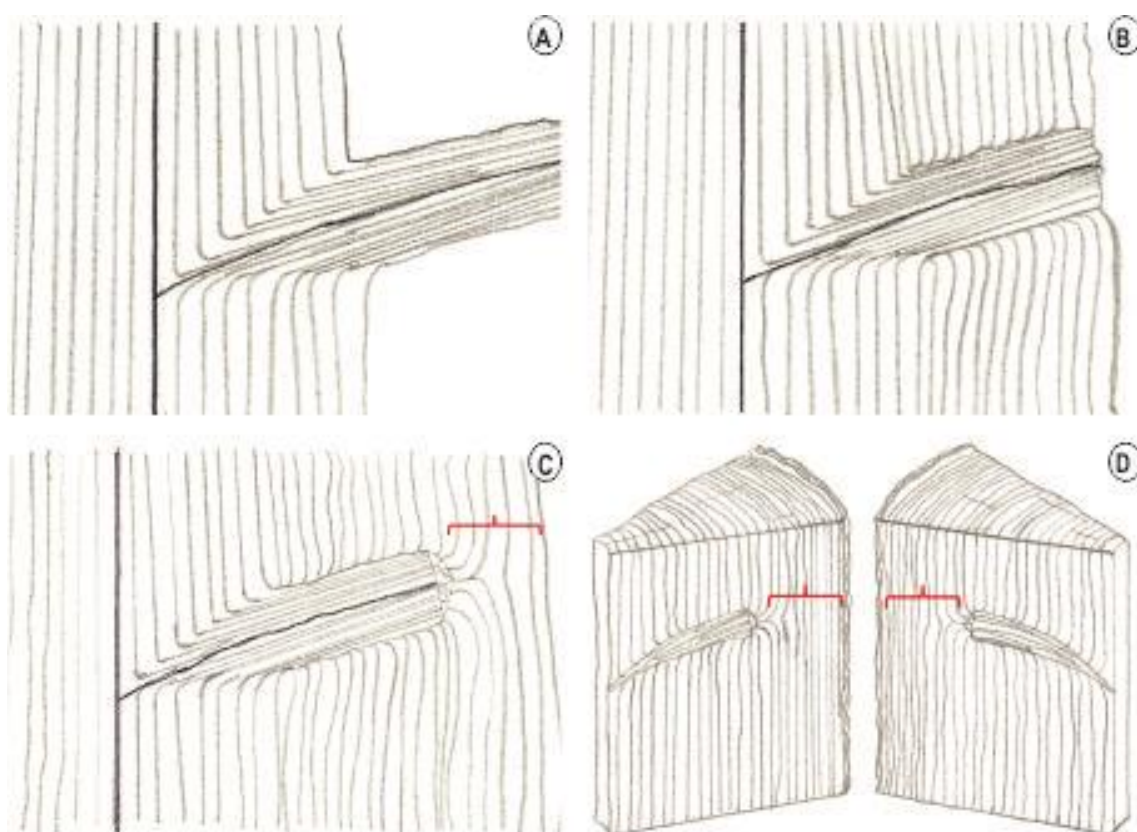
A taxa de crescimento e condições edafoclimáticas favoráveis, constituem outros fatores de regulação do crescimento, diâmetro total e do lume de traqueídes (BARRICHELO, 1979). Quando as condições são propícias para um maior crescimento, a taxa de hormônio aumenta, induzindo as células cambiais a rápidas divisões, não havendo tempo para incremento em comprimento antes da próxima divisão (SHIMOYAMA, 2005). Por este motivo são observadas traqueídes mais curtos em períodos de rápido crescimento (PANSIN e DE ZEEUW, 1980).

### 2.2.2 Formação de nós na madeira

A madeira é um componente natural, produto do metabolismo bioquímico da árvore, originado a partir de processos coordenados por uma ampla variedade de fatores endógenos (fitohormônios), exógenos (fotoperíodo e temperatura), e pela interação entre eles (ANDRADE *et al.*, 2006; FOELKEL, 2009). Alguns trabalhos têm sido desenvolvidos com o intuito de elucidar mecanismos de formação da madeira (PEREIRA *et al.*, 2004; ALONI, 2013). No entanto, os mecanismos pelos quais ocorre o desenvolvimento dos nós, assim como sua composição e especificidades em cada espécie comercial devem ser considerados, haja vista a interferência negativa dos nós na qualidade do produto final da madeira.

De maneira geral, a formação do nó é iniciada com o crescimento natural da árvore, onde a ramificação ocorre a partir de uma gema lateral, promovendo o desenvolvimento do galho (Figura 2.1). O ramo lateral é originalmente ligado à

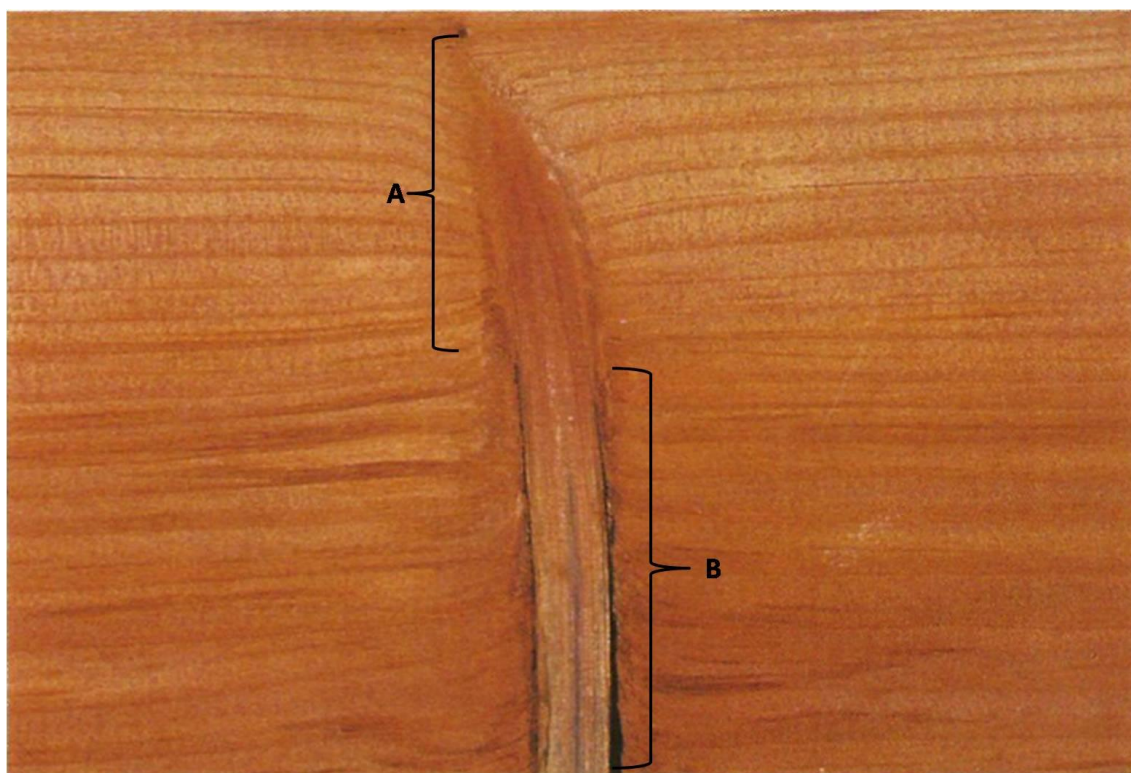
medula do tronco principal e cada anel de crescimento, de forma sucessiva, adiciona camadas contínuas sobre o ramo; embora o anel de crescimento seja mais espesso no tronco, em comparação aos ramos, e o diâmetro do ramo aumenta mais lentamente que o do tronco. Com o aumento do perímetro do tronco, o ramo da madeira vai assumindo a forma de um cone – o nó – que continua o seu desenvolvimento, ainda que mais lentamente, dentro do tronco (HOADLEY, 2000; PLOMION *et al.*, 2001; ALONI, 2013).



**Figura 2.1:** Estágios de crescimento do nó no tronco (modificado de HOADLEY, 2000). (A) galho apresentado atividade fisiológica em desenvolvimento simultâneo ao da árvore e anéis de crescimento sendo incorporados ao corpo do galho. (B) Interrupção do crescimento do galho por poda. (C) Interrupção da atividade fisiológica do galho que se volta ligeiramente para dentro. Os primeiros anéis incorporados ainda são côncavos e direcionados para superfície do galho retirado. (D) Os anéis de crescimento do tronco principal passam a sobrepor o galho, produzindo madeira mais homogênea (limpa), considerada de qualidade superior pela indústria de processamento.

Em algumas espécies, especialmente em coníferas, o nó assume coloração diferenciada da madeira ao seu redor, onde muitas vezes têm coloração avermelhada distinta (BUKSNOWITZ *et al.*, 2010). Em algum momento, o ramo pode morrer (Figura 2.2), como resultado de restrições causadas por

ramos superiores, ou por pouca incidência de luz, por exemplo. O ramo permanece conectado à superfície do tronco, porém com seu câmbio morto, não adicionando mais perímetros ao redor do mesmo. Nessa condição, subseqüentes anéis de crescimento crescem no tronco principal envolvendo a circunferência do ramo morto e, após alguns anos, a parte morta do ramo torna-se um nó envolto, muitas vezes com casca aprisionada (HOADLEY, 2000). À medida que a árvore cresce outras camadas de anéis de crescimento vão cobrindo o nó, e o câmbio vai formando uma camada contínua. Deste ponto em diante, sólidas camadas de madeira e casca serão formadas além do nó (PLOMION, *et al.*, 2001; ALONI, 2013).



**Figura 2.2:** (foto: Randy O'Rourke, modificado de HOADLEY, 2000): Galho que teve sua atividade fisiológica interrompida em determinado momento do desenvolvimento da árvore e permaneceu aderido ao tronco principal. (A) Parte integrada ao tronco que dará origem a nó aderido. (B) Parte do galho desconectada do tronco principal que dará origem a nó solto.

A formação dos galhos e consequentemente dos nós ocorrem a partir de fatores hormonais e genéticos, intrínsecos ao desenvolvimento da planta. O isolamento e caracterização de genes relacionados especificamente com o controle da ramificação, dominância apical e dormência de gemas laterais permitem supor que cada espécie apresente características peculiares de formação de ramificação (SHIMIZU-SATO e MORI, 2001). Em relação ao fator

hormonal, a formação de galhos ocorre a partir de eventos que envolvem a síntese e o deslocamento de determinados hormônios (EMERY *et al.*, 1998). A forma da planta e o desenvolvimento de galhos são derivados a partir da atividade do meristema apical que surge durante a embriogênese, em conjunto com a atividade dos meristemas axiais formados após a germinação das sementes. O meristema apical fornece o eixo principal do corpo da planta e a arquitetura da planta é então moldada pela ramificação resultante da atividade dos meristemas adicionais. O padrão de ramificação depende da evolução temporal e espacial desses meristemas e estas características, embora sejam determinadas geneticamente, são passíveis de mudanças em resposta aos sinais ambientais; o que significa formas vegetais diferentes para as inúmeras espécies de plantas (SHIMIZU-SATO e MORI, 2001).

Em muitas espécies de plantas, o crescimento de meristemas axilares é inibido pelo meristema primário (apical), processo denominado dominância apical; os hormônios auxina e citocinina são os mais importantes no controle deste processo (NAPOLI *et al.*, 1999) e o desenvolvimento do galho depende, principalmente, da razão entre estes dois hormônios. Para a formação do galho, a citocinina está envolvida no estímulo da divisão celular (DEMASON, 2005) e promove o início do desenvolvimento da gema lateral (SHIMIZU-SATO e MORI, 2001). A Auxina – Ácido Indol Acético – AIA atua nos genes das células vegetais, estimulando a síntese de enzimas que promovem o amolecimento da parede celular, possibilitando a distensão das células. A associação entre Citocininas e Auxinas em conjunto com outros fatores (luz, temperatura, umidade, estado nutricional e outros hormônios) (REINHARDT e KUHLEMEIER, 2002) influenciam a maior ou menor incidência de galhos (consequentemente de nós) em uma espécie (EKLOF *et al.*, 1997; MARCHIORO, 2005) e é a principal responsável pela definição da forma geral de muitas plantas (SCHMITZ e THERES, 1999).

Além dos fatores hormonais, os mecanismos reguladores dos sítios de indução de galhos estão em íntima associação com a incidência da luz (TAKENAKA, 2000). A luz favorece o crescimento de gemas laterais por inibir o deslocamento e a atuação da auxina (AIA) produzida na gema apical. Uma vez que o AIA é responsável pela inibição da formação dos galhos, plantios com espaçamentos muito amplos apresentam indivíduos sujeitos à maior incidência de luz, supostamente promovendo a inibição da auxina; com os sítios de iniciação de

novos galhos sendo mais incisivamente ativados. A penetração da luz na casca conduz a foto oxidação da auxina na região cambial, que por sua vez, libera os brotos de qualquer inibição (NICOLINI *et al.*, 2001).

Assim como a região do nó; na sua proximidade, os arranjos das fibras seguem um padrão complexo. A estrutura celular e a anatomia do tecido circundante ao nó são muito diferentes, quando comparadas a porções de madeira mais distante dos nós. Os desvios de fibra resultantes da inserção do nó e a interação com a madeira adjacente influenciam, em escala estrutural, o comportamento de rigidez e resistência de tábuas de madeira (SHIGO, 1985). Muitas vezes, o desvio de grã em torno de nós, é o aspecto chave para determinar a resistência de uma peça estrutural. Independentemente de haver continuidade cambial entre os tecidos do tronco e do ramo, para algumas resinosas, sob condições de estresse de tração, a contribuição da força de nós é tão baixa que sua contribuição pode ser considerada nula, como furos (GUINDOS e GUAITA, 2013). As junções entre o ramo e o tronco suportam força estática e cargas dinâmicas por muitos anos e têm como principais funções proporcionar estabilidade e funcionalidade ao ramo e alterações de diâmetro dessa região são descritas como pontos preferenciais de falhas (JUNGNIKL *et al.*, 2009).

Em árvores de *Pinus* sp. o crescimento de galhos apresentou direção vertical acentuada em direção a copa, até esses atingirem maior diâmetro, quando se tornaram mais horizontais (TONG *et al.*, 2013). Em *Picea abies* ((L.) H. Karst.; Pinaceae) essa mudança de direção no crescimento dos galhos é mais perceptível de cima para baixo (AUDREU e RINNHOFFER, 2003). Em estudo recente, Lukacevic e Füssl (2014) desenvolveram uma ferramenta de simulação computacional de elementos, capaz de considerar o curso tridimensional realista de fibras na vizinhança dos nós. A estimativa dos valores de resistência dentro desta ferramenta se baseia na formação de zonas de falha predominantemente causadas pela tensão perpendicular à grã na vizinhança dos nós. Uma série de testes compreendendo ensaios de tração e flexão foi realizada e utilizada para validação do modelo.

O nó apresenta um aumento da proporção de madeira de compressão enquanto que o comprimento dos elementos traqueais apresenta declínio (BUKSNOWITZ *et al.*, 2010). Os lumes das traqueídes produzidas em resposta à flexão também são menores que os de madeira normal (TELEWSKI, 1989). A



distribuição da grã em torno do nó depende, exclusivamente, da forma desse defeito. Em teoria, nessa região, as traqueídes são orientadas de acordo com a trajetória da seiva para reduzir o potencial de água (GUINDOS e GUAITA, 2013).

## 2.3 MATERIAL E MÉTODOS

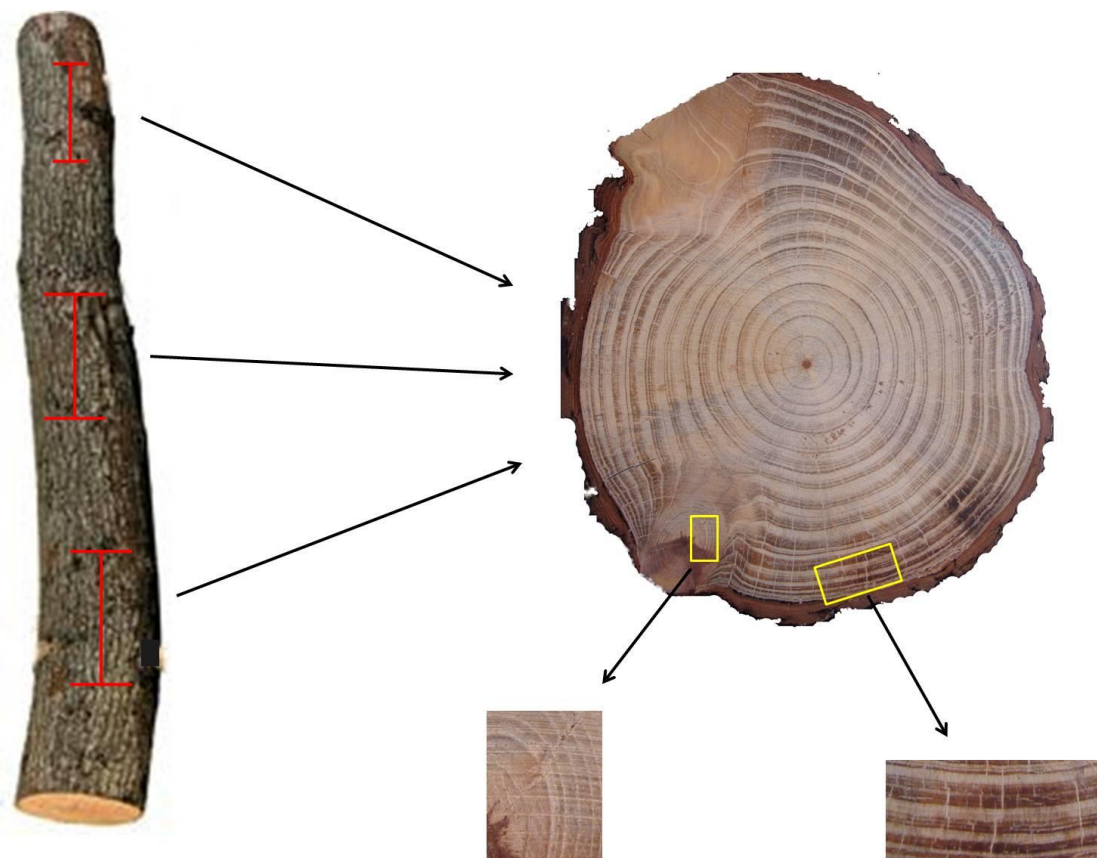
O material de estudo compreendeu cinco árvores com 19 anos, advindas de plantio comercial localizado a 47°04'39" de longitude oeste e 22°53'20" de latitude sul, na cidade de Agudos – SP. A madeira da espécie foi identificada e tombada sob n<sup>os</sup> de registros 10191, 10192, 10193, 10194, 10195 na Xiloteca do Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Foram tombadas e registradas somente amostras da madeira da região de base. Por limitação da quantidade de material de nó, não foram tombadas amostra dessa região.

Cada indivíduo foi mensurado (DAP, altura total, altura de inserção do primeiro galho) e foram retirados três discos por árvore, contendo ao menos um nó/galho para a coleta do material de estudo. Foi estabelecido como critério a retirada de um disco no ponto de inserção do primeiro nó vivo (aproximadamente 25% da altura comercial); a retirada de um disco no ponto de inserção do último galho vivo (100% da altura comercial); e a retirada de um disco no meio da árvore (aproximadamente a 50% da altura comercial).

Os discos coletados foram identificados e armazenados em câmara fria no Laboratório de Estrutura da Madeira do Instituto de Florestas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Com auxílio de uma serra sobre modelo Milwaukee M12 foram retiradas as porções do nó presentes em cada disco e frações de madeira livre de nó.

De cada seção do tronco (base, meio e topo) foram retirados discos contendo ao menos um nó vivo sendo cada disco Identificado. Para efeito de adequação - uma vez que, devido à natureza heterogênea do padrão de inserção dos ganhos ao longo do tronco, seria impossível retirar material de estudos exatamente à mesma altura em todos os indivíduos, foi determinado um intervalo aceitável de altura para retirada do material de estudo. Dos discos obtidos de cada seção, foram confeccionados corpos de prova, conforme as Normas de

Procedimentos em Estudos de Anatomia da Madeira (CORADIN e MUÑIZ, 1991), da região de nó e região livre de nó (Figura 2.3).



**Figura 2.3:** Esquema de obtenção do material para estudo.

O material foi processado no Laboratório de Botânica Estrutural do Instituto de Pesquisa do Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Para a confecção de lâminas histológicas os corpos de prova foram colocados em água sob fervura, sendo necessárias 2h de cozimento em autoclave a 121 atm para amolecimento dos corpos de prova provenientes de nó. Os corpos de prova provenientes da madeira livre de nó foram mantidos sob fervura em placa de aquecimento por 30 minutos.

O seccionamento dos corpos de prova em lâminas histológicas foi realizado em micrótomo de deslize LEICA SM 2000R com espessura variando de 12 a 26 micrômetros; posteriormente os cortes histológicos foram tratados segundo o protocolo para análise anatômica sendo clarificados pelo hipoclorito de sódio em solução aquosa 50% e corados por safranina hidroalcoólica a 50% (SASS, 1958). Lâminas permanentes do material foram confeccionadas realizando a desidratação dos cortes em série etílica ascendente, posteriormente

transferindo-os para xilol P.A. (JOHANSEN 1940; SASS 1958) e com a utilização de permount. Para a dissociação e mensuração das traqueídes foi realizada maceração de fragmentos de material segundo a metodologia modificada de Franklin (1945). As contagens e mensurações dos elementos celulares seguiram as normas do IAWA Committee (1989) com modificação de 25 para 30 mensurações.

As mensurações foram realizadas pelo sistema de processamento de imagens Image Pro Plus versão 3.0 para Windows. As fotomicrografias foram obtidas ao microscópio Olympus BH2 Provido de equipamento fotográfico PM-10 AB. Foram realizadas 30 mensurações das traqueídes em cada seção (base, meio e topo) de cada indivíduo perfazendo 180 medições de comprimento (CT), 180 medições de Diâmetro (DT) e 180 medições de Diâmetro do Lume (DL) num total de 540 observações por árvore para um total de 2700 observações para cada elemento anatômico. A espessura da parede celular foi calculada segundo a fórmula:  $(DT - DL) / 2$  (SOUZA *et al.*, 2005). Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura foram obtidas junto ao Laboratório de Ultraestrutura Celular e Biofísica Hertha Meyer da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

### 2.3.1 Análise estatística dos dados para as variáveis anatômicas

Definidas as variáveis (comprimento ( $\mu\text{m}$ ); diâmetro total ( $\mu\text{m}$ ); diâmetro do lume ( $\mu\text{m}$ ) e espessura da parede ( $\mu\text{m}$ )), as condições de “nó base” (NB), “nó meio” (NM), “nó topo” (NT), foram descritas e comparadas entre si. A título de comparação, o mesmo procedimento foi realizado para as condições de “madeira sem nós” na base (MB), madeira no meio (MM) e madeira no topo (MT). Posteriormente, os conjuntos de “nós” e “madeira sem nós” foram comparados entre si considerando as variáveis descritas.

Nas medidas simples foram identificados e excluídos os extremos (*outliers*). Para as análises realizadas a partir das médias ( $n=5$ ), as quais são derivadas de medidas simples ( $n=30$  em cada setor: base, meio e topo), eventuais extremos foram mantidos, visando a realização de análises univariadas, com base em testes de hipótese. Nos casos em que os conjuntos de dados apresentavam características paramétricas, foram realizadas correlações de Pearson, sendo as comparações das médias realizadas por ANOVA. No caso da ANOVA, para

diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) foi aplicado o teste *a posteriori* de Bartlett, para caracterização das diferenças. A normalidade foi avaliada pelo teste Kolmogorov-Smirnov (K-S). Nos casos em que os pressupostos de normalidade e homocedasticidade das variâncias não foram atingidos os conjuntos de dados foram submetidos aos similares não paramétricos (correlação de Spearman e teste “H” de Kruskal-Wallis). No caso do teste “H” de K-W, para diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) foi aplicado o teste *a posteriori* de Dunn (ARANGO, 2001). Para essas análises foi utilizado o pacote GraphPad Prism v. 6 (GRAPHPAD, 2012).

Para inferir ou estimar eventuais diferenças entre as três porções dos troncos: (base, meio e topo), nas condições de “nós” isoladamente, “madeira sem nós” isoladamente, e para os conjuntos de “nós” e de “madeira sem nós”, sob a ótica multivariada, foram utilizados os valores médios de cada indivíduo ( $n=5$ ), compostos pelos valores simples ( $n=30$  em cada setor: base, meio e topo), não havendo necessidade de padronização dos dados visto que todas as variáveis físicas analisadas foram mensuradas na mesma unidade de medida. Para execução das análises foi utilizado o pacote PAST v. 2.17c (HAMMER *et al.*, 2001).

Sob a ótica multivariada foram realizadas Análises de Agrupamento Simples e com 9999 permutações por *Bootstrap*, para aferição percentual dos agrupamentos, e Escalonamentos Multidimensionais não Métricos (NMDS). Em ambas as análises foram utilizadas a distância Euclidiana simples, como medida de aferição de proximidade espacial entre as amostras pareadas.

Para aferição quantitativa numérica das semelhanças ou diferenças inferidas nas análises anteriores foram realizadas Análises de Similaridades (ANOSIM) e Análises MANOVA Não-Paramétrica (NPMANOVA ou PERMANOVA) (HAMMER *et al.*, 2001).

## 2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2.4.1 Dimensões das traqueídes

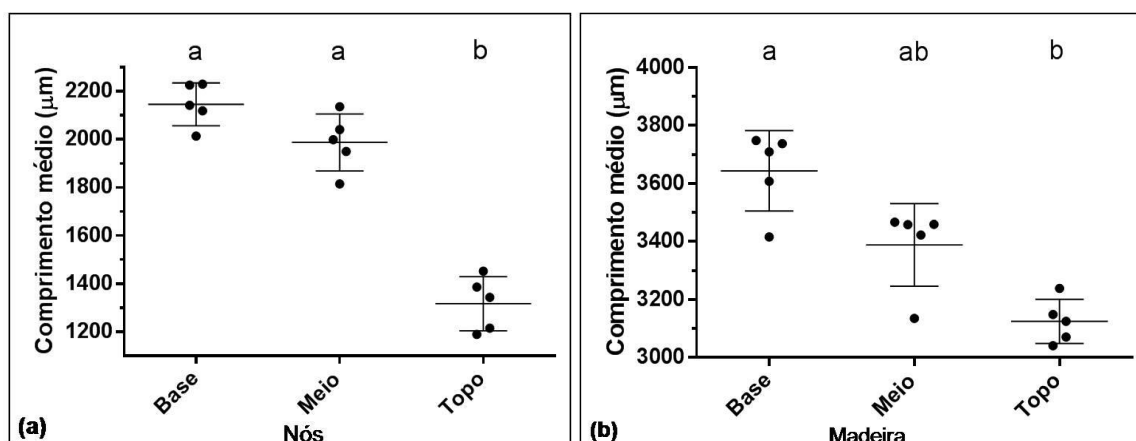
Nos “nós”, via de regra, nas três porções do tronco analisadas (base, meio e topo) as traqueídes apresentam medidas menores que nos trechos de “madeira sem nós” (Tabela 2.1).

**Tabela 2.1:** Características morfológicas das traqueídes de nós e madeira livre de nós de *Pinus elliottii*

		Comprimento (µm)			Diâmetro total (µm)		
		Base	Meio	Topo	Base	Meio	Topo
<b>Nó</b>							
Média		2146,00	1988,00	1317,00	48,38	52,00	43,47
(± desvio padrão)		(±88,92)	(±118,5)	(±112,3)	(±3,43)	(±2,59)	(±4,34)
Mínimo		2014,00	1815,00	1189,00	45,21	47,41	37,92
Máximo		2230,00	2136,00	1452,00	53,55	53,68	49,71
Coeficiente de Variação		4,14%	5,96%	8,53%	7,09%	4,99%	9,97%
K-S		0,2152	0,1736	0,2181	0,3055	0,4132	0,1635
Valor de P		> 0,1000	> 0,1000	> 0,1000	> 0,1000	0,0054	> 0,1000
Resumo K-S (0,05)		ns	ns	ns	ns	**	ns
Assimetria		-0,7314	-0,4689	-0,1035	1,012	-2,127	0,3646
Curtose		-0,08393	0,7807	-2,248	-0,3392	4,627	0,7744
<b>Madeira</b>							
Média		3644,00	3389,00	3125,00	61,21	57,31	55,40
(± desvio padrão)		(±139,00)	(±142,6)	(±76,35)	(±1,654)	(±1,218)	(±1,315)
Mínimo		3416,00	3136,00	3041,00	59,25	56,01	53,69
Máximo		3749,00	3467,00	3239,00	62,81	59,08	56,63
Coeficiente de Variação		3,82%	4,21%	2,44%	2,70%	2,12%	2,37%
K-S		0,2813	0,3939	0,1791	0,2187	0,1686	0,2599
Valor de P		> 0,1000	0,1009	> 0,1000	> 0,1000	> 0,1000	> 0,1000
Resumo K-S (0,05)		ns	*	ns	ns	ns	ns
Assimetria		-1,494	-2,157	0,6959	-0,3344	0,6319	-0,581
Curtose		1,76	4,693	0,2423	-2,841	-0,4083	-2,437
		Diâmetro do lume (µm)			Espessura da parede (µm)		
		Base	Meio	Topo	Base	Meio	Topo
<b>Nó</b>							
Média	(± desvio padrão)	23,43	27,84	16,93	11,99	11,81	13,27
		(±3,60)	(±5,52)	(±1,348)	(±0,39)	(3,141)	(±1,694)
Mínimo		20,03	18,08	15,21	11,55	8,92	11,35
Máximo		29,22	31,19	18,06	12,55	17,18	15,9
Coeficiente de Variação		15,36%	19,81%	7,96%	3,24%	26,60%	12,77%
K-S		0,2355	0,3813	0,3255	0,1516	0,3793	0,2172
Valor de P		> 0,1000	0,1066	0,0896	> 0,1000	0,0178	> 0,1000
Resumo K-S (0,05)		ns	*	ns	ns	*	ns
Assimetria		1,301	-2,12	-0,6638	0,5011	1,73	0,9179
Curtose		1,565	4,557	-2,786	-0,3153	3,612	1,428

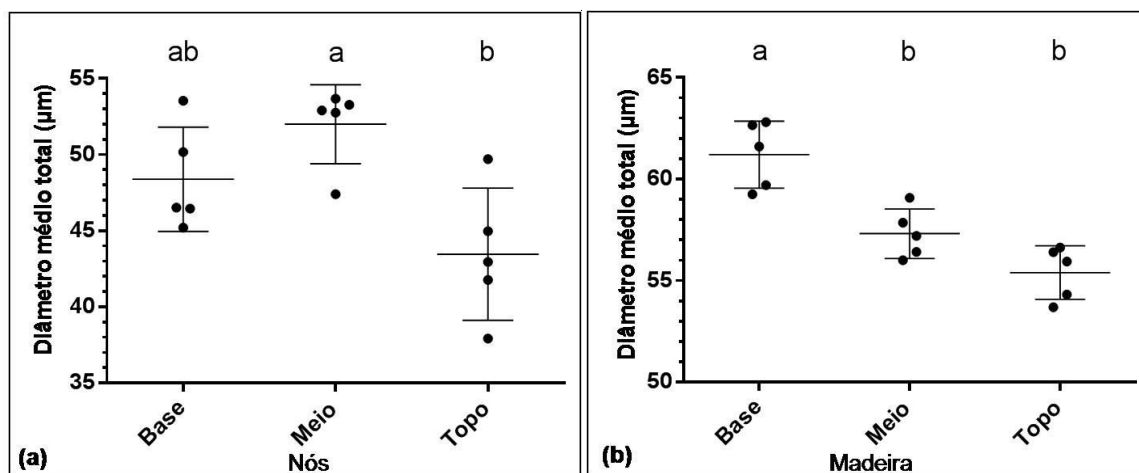
<b>Madeira</b>							
Média	( $\pm$ desvio padrão)	29,91 ( $\pm 1,78$ )	25,64 ( $\pm 1,18$ )	21,66 ( $\pm 2,05$ )	15,65 ( $\pm 1,42$ )	16,24 ( $\pm 0,79$ )	16,42 ( $\pm 1,21$ )
Mínimo		28,06	24,03	20,25	13,47	15,5	15,12
Máximo		32,32	26,86	25,2	17,03	17,36	18,17
Coeficiente de Variação		5,94%	4,60%	9,44%	9,04%	4,84%	7,36%
K-S		0,2482	0,1965	0,3633	0,1801	0,2254	0,1799
Valor de P		> 0,1000	> 0,1000	> 0,0297	> 0,1000	> 0,1000	> 0,1000
Resumo K-S (0,05)		ns	ns	*	ns	ns	ns
Assimetria		0,5901	-0,4588	1,901	-0,9738	0,572	0,6561
Curtose		-1,712	-1,454	3,816	0,5951	-0,8046	-0,5376

Quando comparados os comprimentos médios ( $\mu\text{m}$ ) das traqueídes dos “nós”, observam-se estruturas mais longas na base, no meio do tronco, em comparação aos do topo (Figura 2.4a). Comparados os comprimentos médios ( $\mu\text{m}$ ) da “madeira sem nós”, observam-se valores semelhantes entre traqueídes da base e do meio do tronco. As traqueídes da região do topo apresentaram valores semelhantes aos encontrados no meio do tronco, mas diferiram dos valores encontrados na base (Figura 2.4b).



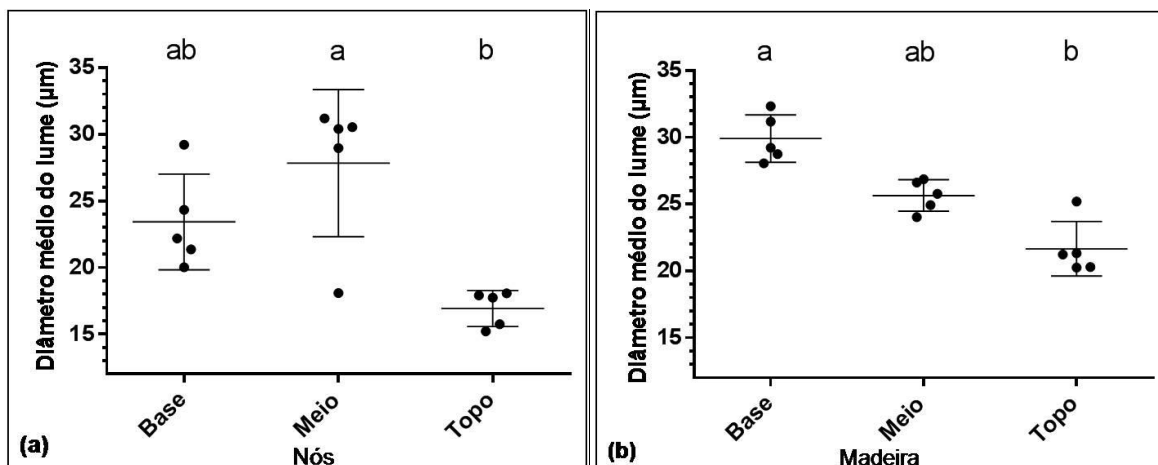
**Figura 2.4:** Distribuição comparativa do comprimento médio ( $\mu\text{m}$ ) das traqueídes em “nós” (a) e “madeira sem nós” (b) de indivíduos adultos de *Pinus elliotii* em distintas posições do tronco (base, meio e topo). Cada ponto representa a média de medições ( $n=30$ ) em cada indivíduo ( $n=5$ ). Linhas horizontais (média  $\pm$  desvio padrão). Letras diferentes indicam diferenças significativas: (a) por ANOVA F [2, 12] = 84,11;  $P < 0,0001$ , (b) por Kruskal-Wallis ( $H = 9,74$ ;  $P = 0,0014$ ).

Quando comparados os diâmetros totais médios ( $\mu\text{m}$ ) das traqueídes dos “nós” observa-se diâmetros totais maiores no meio do tronco, em comparação aos do topo. Porém, não foram registradas diferenças significativas entre a base e o meio, nem entre a base e o topo (Figura 2.5a). Comparados os diâmetros totais médios ( $\mu\text{m}$ ) da “madeira sem nós” observam-se valores distintos entre os diâmetros totais da base em comparação aos valores das traqueídes no meio e no topo da árvore. Entre meio e topo não se pode afirmar que existam diferenças significativas nessa variável (Figura 2.5b).



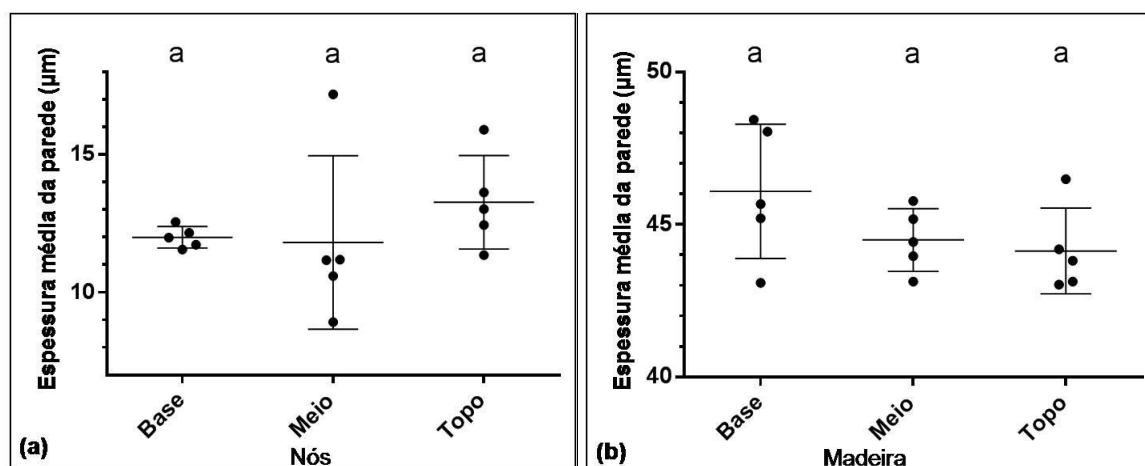
**Figura 2.5:** Distribuição comparativa do diâmetro total médio ( $\mu\text{m}$ ) das traqueídes em “nós” (a) e “madeira sem nós” (b) de indivíduos adultos de *Pinus elliottii* em distintas posições do tronco (base, meio e topo). Cada ponto representa a média de medições ( $n=30$ ) em cada indivíduo ( $n=5$ ). Linhas horizontais (média  $\pm$  desvio padrão). Letras diferentes indicam diferenças significativas: (a) por Kruskal-Wallis ( $H = 8,060$ ;  $P = 0,0092$ ), (b) por ANOVA ( $F [2, 12] = 22,09$ ;  $P < 0,0001$ ).

Quando comparados os diâmetros médios do lume ( $\mu\text{m}$ ) das traqueídes dos “nós” observam-se diâmetros de lume maiores no meio do tronco, em comparação aos do topo. Além disso, semelhantemente ao diâmetro total, não foram identificadas diferenças significativas entre a base e o meio, nem entre a base e o topo (Figura 2.6a). Comparados os diâmetros médios do lume ( $\mu\text{m}$ ) na “madeira sem nós” foram registrados diâmetros totais similares entre base e meio do tronco, e entre meio e topo do tronco. Já entre a base e o topo existem diferenças significativas (Figura 2.6b).



**Figura 2.6:** Distribuição comparativa do diâmetro médio do lume (μm) das traqueídes em “nós” (a) e “madeira sem nós” (b) de indivíduos adultos de *Pinus elliotii* em distintas posições do tronco (base, meio e topo). Cada ponto representa a média de medições (n=30) em cada indivíduo (n=5). Linhas horizontais (média ± desvio padrão). Letras diferentes indicam diferenças significativas: (a) por Kruskal-Wallis ( $H = 10,22$ ;  $P = 0,0006$ ), (b) por Kruskal-Wallis ( $H = 11,58$ ;  $P = 0,0001$ ).

Quando comparadas as espessuras médias das paredes (μm) das traqueídes dos “nós” (Figura 2.7a) e em “madeira sem nós” (Figura 2.7b), não é possível afirmar que existam diferenças significativas entre base, meio e topo do tronco.

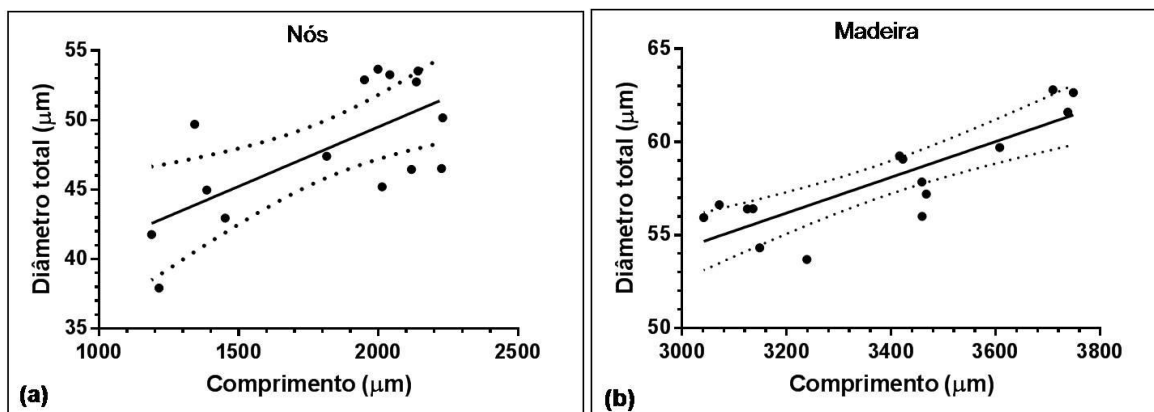


**Figura 2.7:** Distribuição comparativa da espessura média da parede (μm) das traqueídes em “nós” (a) e “madeira sem nós” (b) de indivíduos adultos de *Pinus elliotii* em distintas posições do tronco (base, meio e topo). Cada ponto representa a média de medições (n=30) em cada indivíduo (n=5). Linhas horizontais (média ± desvio padrão). Letras iguais não indicam diferenças significativas: (a) por Kruskal-Wallis ( $H = 4,22$ ;  $P = 0,1226$ ), (b) por ANOVA ( $F [2, 12] = 0,5952$ ;  $P < 0,567$ ).



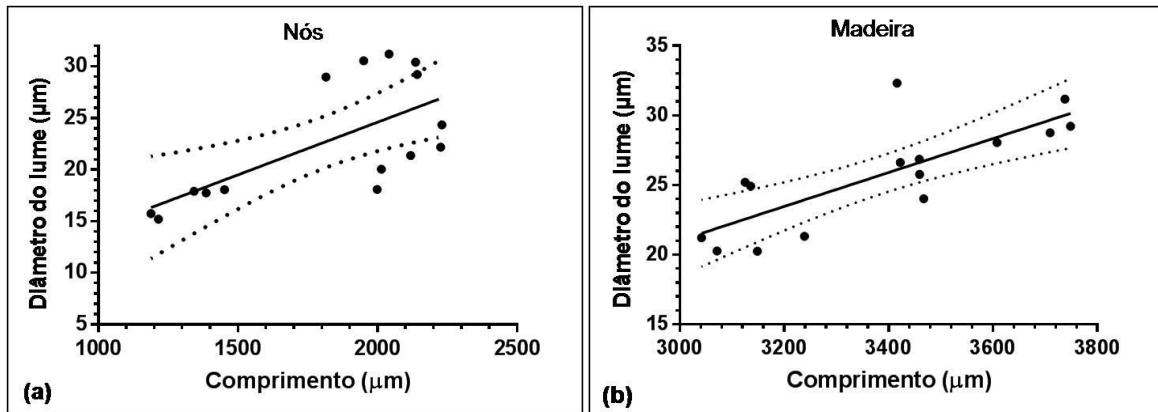
### 2.4.2 Correlações entre as dimensões das traqueídes

Conforme esperado foi identificada uma correlação positiva, de moderada a forte ( $r = 0,68$ ), entre o comprimento e o diâmetro total das traqueídes nos “nós”, sendo os valores dos diâmetros totais explicados em cerca de 46% pela variação no comprimento (Figura 2.8a). No caso da “madeira sem nós”, a correlação é alta ( $r = 0,84$ ) sendo os valores dos diâmetros totais explicados em cerca de 71% pela variação no comprimento das traqueídes (Figura 2.8b).



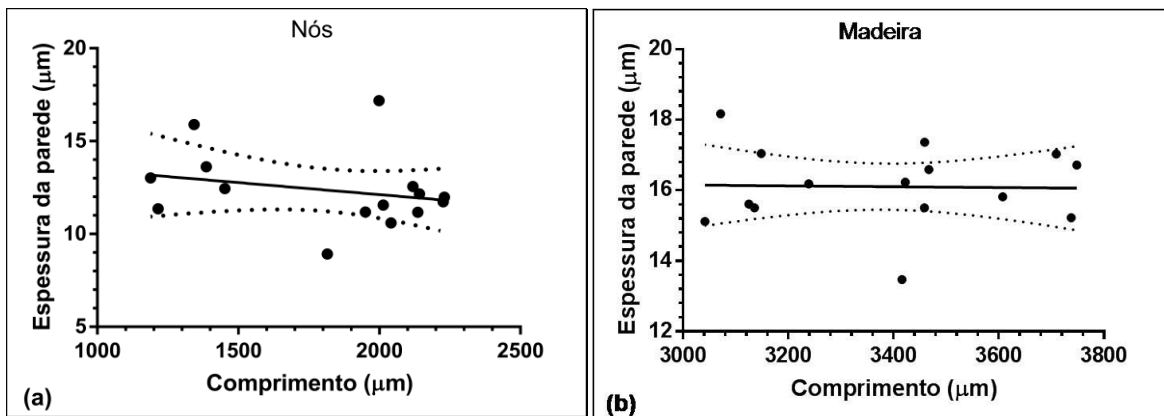
**Figura 2.8:** Correlação entre comprimento (µm) e diâmetro total (µm) das traqueídes em “nós” (a) e “madeira sem nós” (b) de indivíduos adultos de *Pinus elliottii* em três posições do tronco (base, meio e topo) ( $n=5$  em cada posição). Cada ponto representa a média de medições ( $n=30$ ) em cada indivíduo ( $n=5$ ). A linha contínua representa o melhor ajuste da curva e as linhas pontilhadas delimitam o intervalo de confiança (95%) (a): ( $F [1, 13] = 10,97$ ;  $P = 0,0056$ ).  $r = 0,68$ ;  $R^2 = 0,4576$ ; (b): ( $F [1, 13] = 31$ ;  $45 P < 0,0001$ ).  $r = 0,84$ ;  $R^2 = 0,7075$ .

Entre o comprimento e o diâmetro do lume das traqueídes nos “nós”, foi identificada correlação positiva de moderada a forte ( $r = 0,67$ ), sendo os valores dos diâmetros do lume explicados em cerca de 45% pela variação no comprimento (Figura 2.9a). Em relação à “madeira sem nós”, foi identificada uma forte correlação positiva ( $r = 0,79$ ), entre o comprimento e o diâmetro do lume das traqueídes, sendo os valores dos diâmetros explicados em cerca de 62% pela variação no comprimento das traqueídes (Figura 2.9b).



**Figura 2.9:** Correlação entre comprimento ( $\mu\text{m}$ ) e diâmetro do lume ( $\mu\text{m}$ ) das traqueídes em “nós” (a) e “madeira sem nós” (b) de indivíduos adultos de *Pinus elliotii* em três posições do tronco (base, meio e topo) ( $n=5$  em cada posição). Cada ponto representa a média de medições ( $n=30$ ) em cada indivíduo ( $n=5$ ). A linha contínua representa o melhor ajuste da curva e as linhas pontilhadas delimitam o intervalo de confiança (95%). (a):  $F [1, 13] = 10,58$ ;  $P = 0,0063$ ,  $r = 0,67$ ;  $R^2 = 0,4487$ ; (b):  $F [1, 13] = 21,02$ ;  $P = 0,0005$ ,  $r = 0,79$ ;  $R^2 = 0,6179$ .

Não foi identificada correlação significativa ( $r = -0,25$ ; correlação negativa fraca) entre o comprimento e a espessura da parede das traqueídes nos “nós”. Os valores de espessura da parede podem ser explicados em apenas cerca de 6%, considerando a variação no comprimento (Figura 2.10a). Na “madeira sem nós”, foi identificada uma correlação significativa ( $r = 0,03$ ). Os valores de espessura da parede podem ser explicados em apenas cerca de 0,07%, ou seja, em menos de 1%, considerando a variação no comprimento das traqueídes (Figura 2.10b).



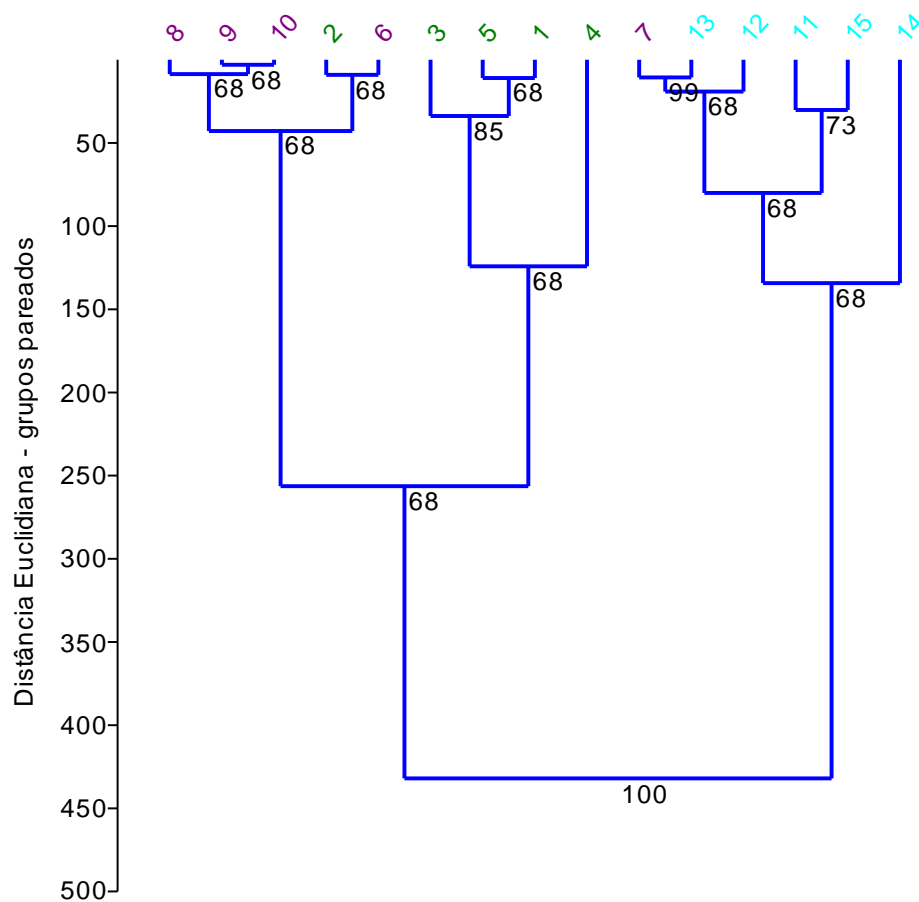
**Figura 2.10:** Correlação entre comprimento ( $\mu\text{m}$ ) e espessura da parede ( $\mu\text{m}$ ) das traqueídes em “nós” (a) e “madeira sem nós” (b) de indivíduos adultos de *Pinus elliotii* em três posições do tronco (base, meio e topo) ( $n=5$  em cada posição). Cada ponto representa a média de medições ( $n=30$ ) em cada indivíduo ( $n=5$ ). A linha contínua representa o melhor ajuste da curva e as linhas pontilhadas delimitam o intervalo de confiança (95%). (a):  $F [1, 13] = 0,8317$ ;  $P = 0,3784$ ,  $r = -0,25$ ;  $R^2 = 0,0601$ ; (b):  $F [1, 13] = 0,0088$ ;  $P = 0,9266$ ,  $r = 0,03$ ;  $R^2 = 0,0007$ .

### 2.4.3 Análises multivariadas por grupo (“nós” e “madeira sem nós”)

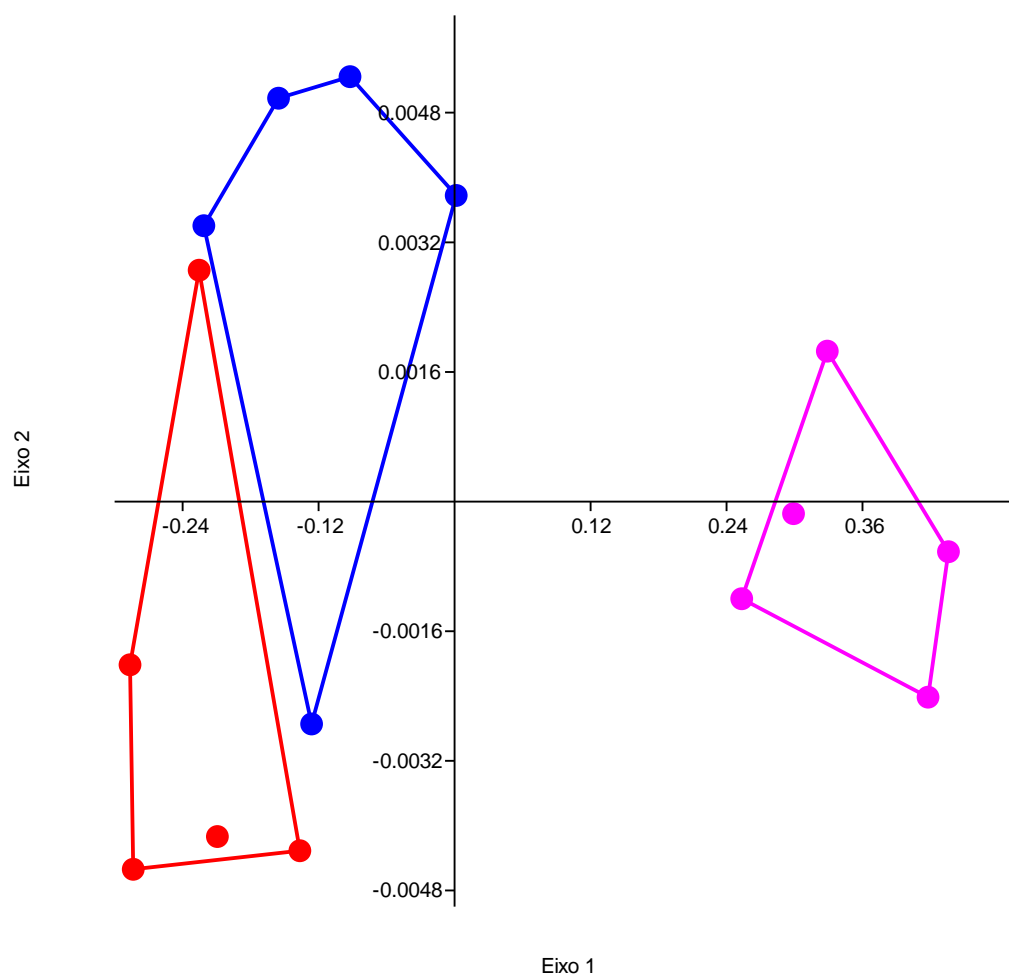
A Análise de Agrupamento baseada nas características de comprimento, diâmetro total; diâmetro do lume e espessura da parede das traqueídes nos “nós” sugere que o topo do tronco é distinto da base e do meio. As amostras do topo, de números 11, 12, 13, 14 e 15 (em rosa) formam um grupo distinto do outro formado pelas amostras da base (1, 2, 3, 4 e 5, em vermelho), em conjunto com as amostras do meio (6, 7, 8, 9, 10, em azul escuro) (Figura 2.11). A Análise de Agrupamento na “madeira sem nós” sugere que o topo do tronco é distinto da base e do meio. As amostras do topo, de números 11, 12, 13, 14 e 15 (em azul claro), mais o indivíduo 7, em roxo, formam um grupo distinto do outro formado pelas amostras da base (1, 3, 4 e 5, em verde). Mais semelhante a esse grupo existe outro conjunto formado pelas amostras do meio (6, 8, 9, 10, em roxo), estando inserida nesse a amostra 2, da base (Figura 2.12).

O Escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) reforça a distinção entre as amostras das traqueídes obtidos de “nós” localizados no topo dos troncos (rosa) e as amostras da base (vermelho) e do meio (azul escuro). Também sugere uma possível diferença entre essas duas últimas condições (Figura 2.13). Na “madeira sem nós”, reforça a distinção entre as amostras das traqueídes e identifica um gradiente pleno, determinado pelo Eixo 1 ( $E = 1$ ), considerando as amostras localizadas no topo das árvores (em azul claro), passando pelas amostras do meio das árvores (em roxo), alcançando por fim as amostras da base das árvores (em verde), (Figura 2.14).

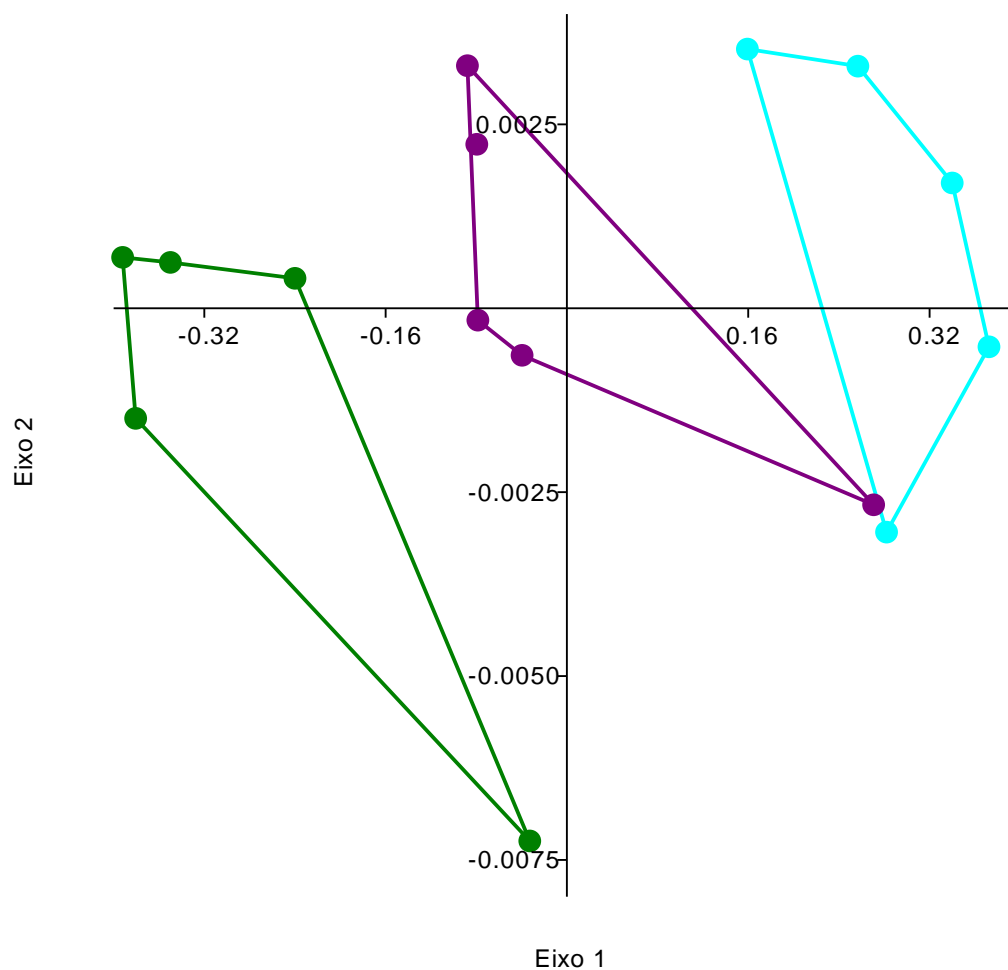




**Figura 2.12:** Análise de Agrupamento a partir da distância Euclidiana simples em grupos pareados, de partes de indivíduos adultos de *Pinus elliotii*, considerando amostras das traqueídes obtidos em “madeira sem nós” da base (em verde: 1, 2, 3, 4 e 5), do meio (em roxo: 6, 7, 8, 9 e 10) e do topo (em azul claro: 11, 12, 13, 14, e 15) dos troncos. Variáveis consideradas: comprimento ( $\mu\text{m}$ ), diâmetro total ( $\mu\text{m}$ ); diâmetro do lume ( $\mu\text{m}$ ) e espessura da parede ( $\mu\text{m}$ ). Coeficiente de correlação cofenética = 0,8284. Nas ligações, os percentuais de confiabilidade (em preto) das mesmas após 9.999 permutações por *Bootstrap*.

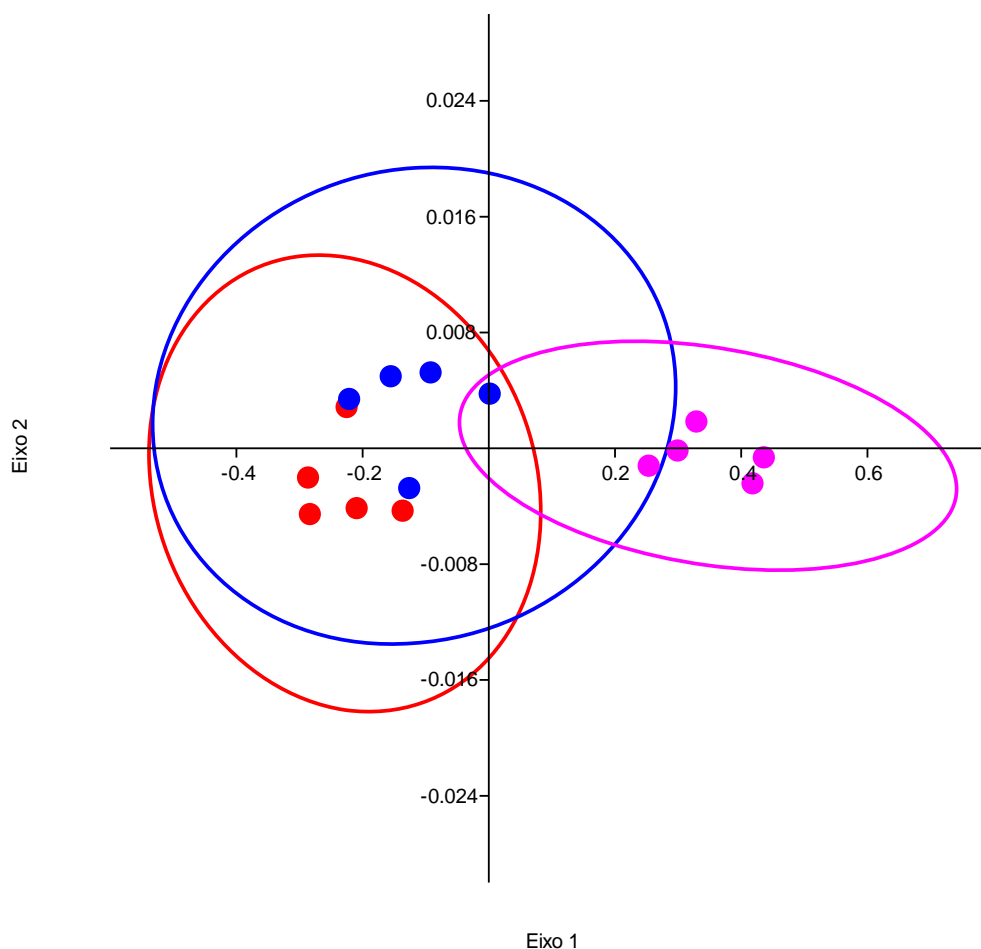


**Figura 2.13:** Escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) em três dimensões, a partir da distância Euclidiana simples, em grupos pareados, de partes de indivíduos adultos de *Pinus elliottii*, considerando amostras das traqueídes obtidos em “nós” na base (vermelho), no meio (azul escuro) e no topo (rosa) dos troncos. Variáveis consideradas: comprimento ( $\mu\text{m}$ ), diâmetro total ( $\mu\text{m}$ ); diâmetro do lume ( $\mu\text{m}$ ) e espessura da parede ( $\mu\text{m}$ ). Estresse = 0 (Eixo 1  $\approx$  1; Eixo 2  $\approx$  0).



**Figura 2.14:** Escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) em duas dimensões, a partir da distância Euclidiana simples, em grupos pareados, de partes de indivíduos adultos de *Pinus elliotii*, considerando amostras das traqueídes obtidos na “madeira sem nós” na base (verde), no meio (roxo) e no topo (azul claro) dos troncos. Variáveis consideradas: comprimento ( $\mu\text{m}$ ), diâmetro total ( $\mu\text{m}$ ); diâmetro do lume ( $\mu\text{m}$ ) e espessura da parede ( $\mu\text{m}$ ). Estresse = 0 (Eixo 1 = 1; Eixo 2 = 0).

Ao delimitar as elipses de 95% de confiança dos dados dos “nós” para cada parte do tronco caracterizada *a priori*, não se pode confirmar as indicações de diferenças entre a base (vermelho) e o meio (azul escuro) devido à grande sobreposição dos polígonos. Porém, o topo (rosa) apresenta sobreposição bastante menor com a base e com o meio, reforçando a análise anterior (Figura 2.15).



**Figura 2.15:** Escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) em três dimensões, a partir da distância Euclidiana simples, em grupos pareados, de partes de indivíduos adultos de *Pinus elliottii*, considerando amostras das traqueídes obtidos em “nós” na base (vermelho), no meio (azul escuro) e no topo (rosa) dos troncos. Variáveis consideradas: comprimento ( $\mu\text{m}$ ), diâmetro total ( $\mu\text{m}$ ); diâmetro do lume ( $\mu\text{m}$ ) e espessura da parede ( $\mu\text{m}$ ). Estresse = 0 (Eixo 1  $\approx$  1; Eixo 2  $\approx$  0). Elipses de 95%, com cor associada a cada conjunto pré-estabelecido.

Como a NMDS apresenta estresse aproximadamente igual a zero, a mesma possibilita uma “ótima” interpretação (estresse abaixo de 2,5%; senso KRUSKAL, 1964) ou ainda uma interpretação “excelente” (abaixo de 5%, senso CLARKE, 1993). Dessa forma, pode-se inferir sobre a existência de diferenças entre o topo dos troncos e as porções situadas na base e no meio, considerando os parâmetros analisados das traqueídes.

A Análise de Similaridades (ANOSIM) e a MANOVA Não-Paramétrica (NPMANOVA ou PERMANOVA), reafirmam as análises anteriores estimando



numericamente semelhanças e diferenças entre os “nós” das três partes dos troncos estabelecidas *a priori* (Tabela 2.2).

**Tabela 2.2:** Matriz de significância (P) das distâncias Euclidianas simples entre as três partes do tronco de indivíduos adultos de *Pinus elliottii*, considerando amostras das traqueídes obtidos em “nós” na base, no meio e no topo dos troncos. Variáveis consideradas: comprimento ( $\mu\text{m}$ ), diâmetro total ( $\mu\text{m}$ ); diâmetro do lume ( $\mu\text{m}$ ) e espessura da parede ( $\mu\text{m}$ ). 9.999 permutações.

“Nós”	ANOSIM			NPMANOVA		
	r = 0,7253; P = 0,0003			F = 83,9; P = 0,0001		
	Partes	Meio	Topo	Partes	Meio	Topo
	Base	0,1069	0,0007	Base	0,0582	0,0083
	Meio		0,0080	Meio		0,0082

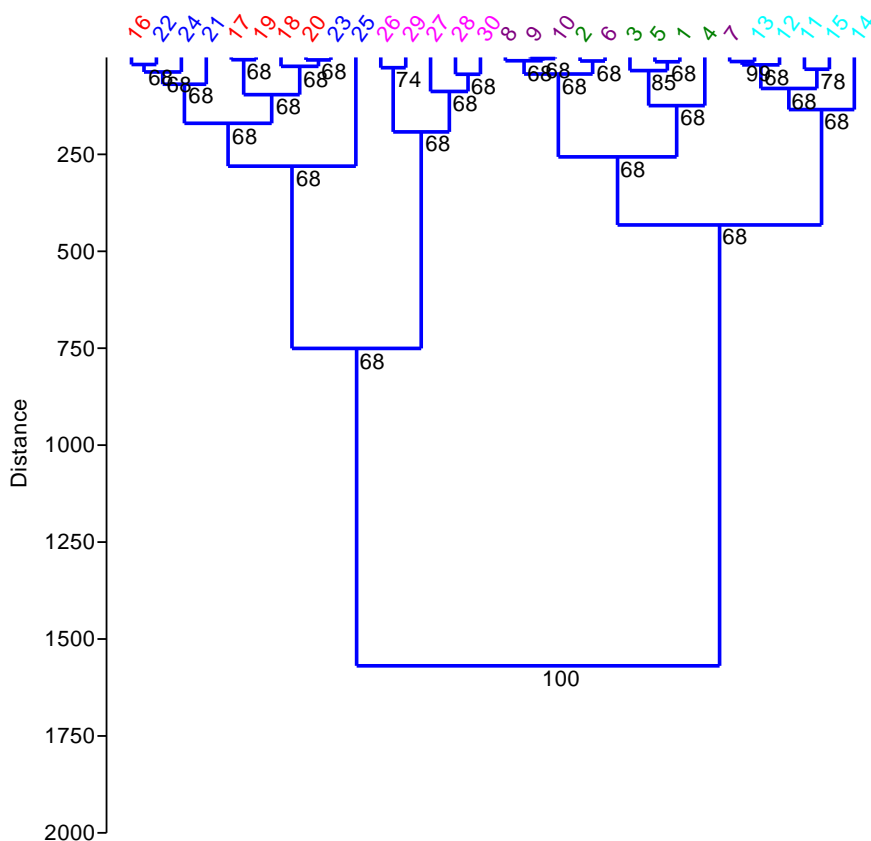
  

“Madeira sem nós”	ANOSIM			NPMANOVA		
	r = 0,6569; P = 0,0003			F = 22,22; P = 0,0003		
	Partes	Meio	Topo	Partes	Meio	Topo
	Base	0,4666	0,0080	Base	0,0432	0,0069
	Meio		0,0249	Meio		0,0232

Em síntese, considerando as variáveis anatômicas associadas às traqueídes dos “nós” as análises multivariadas reafirmam alguns dos parâmetros analisados separadamente, nas análises univariadas, e demonstram que a base e o meio do tronco de indivíduos adultos de *Pinus elliottii* são semelhantes entre si, mas distintos do topo. Em relação à “madeira sem nós” demonstram que a base, o meio e o topo do tronco de indivíduos adultos de *Pinus elliottii* apresentam traqueídes com características distintas entre si.

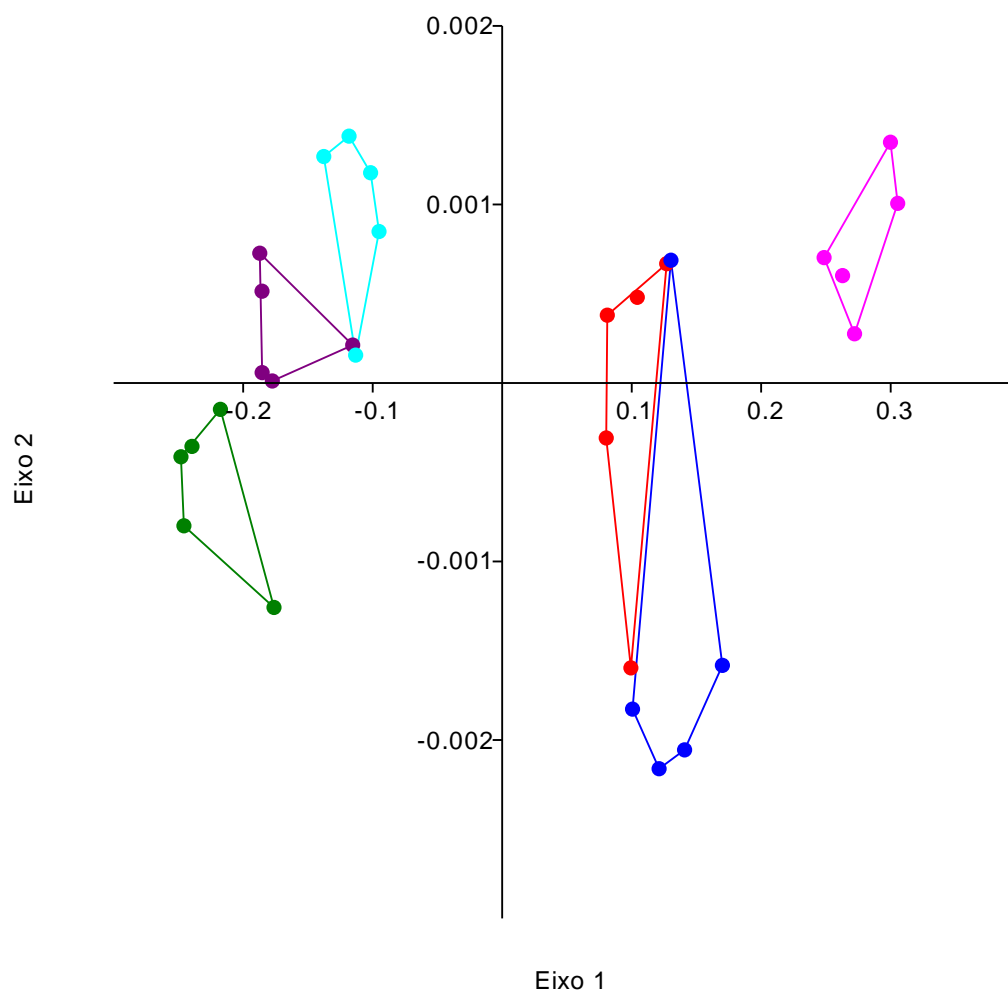
#### 2.4.4 Análises multivariadas comparativa: “nós” e “madeira sem nós”

A Análise de Agrupamento baseada nas características de comprimento, diâmetro total, diâmetro do lume e espessura da parede das traqueídes na “madeira sem nós” e nos “nós” aponta que ambos formam grupos distintos. As amostras de “madeira sem nós” (1 a 15) formam um conjunto distinto das amostras dos “nós” (16 a 30). Além disso, em ambos os casos, o topo se notabiliza por formar um subgrupo isolado, no caso dos “nós”, ou praticamente isolado, no caso da “madeira sem nós”, existindo neste apenas a semelhança maior de uma amostra do “meio” da árvore do indivíduo 7 (Figura 2.16).



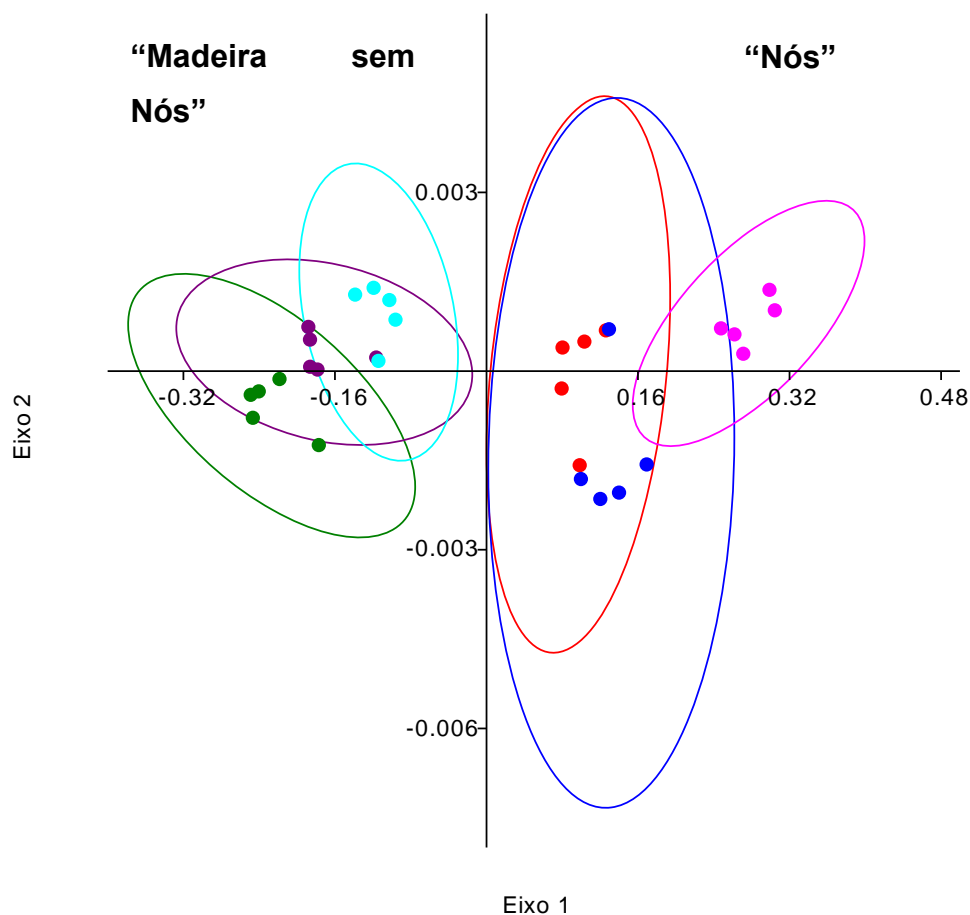
**Figura 2.16:** Análise de Agrupamento a partir da distância Euclidiana simples em grupos pareados, de partes de indivíduos adultos de *Pinus elliottii*, considerando amostras das traqueídes obtidas em “madeira sem nós”, de 1 a 15 (1 a 5 em verde = base; 6 a 10 em roxo = meio; e 11 a 15 em azul claro = topo) e amostras dos “nós”, de números de 16 a 30 (16 a 20 em vermelho = base; 21 a 25 em azul escuro = meio; e 26 a 30 em rosa = topo). Variáveis consideradas: comprimento ( $\mu\text{m}$ ), diâmetro total ( $\mu\text{m}$ ); diâmetro do lume ( $\mu\text{m}$ ) e espessura da parede ( $\mu\text{m}$ ). Coeficiente de correlação cofenética = 0,8867. Nas ligações, os percentuais de confiabilidade (em preto) das mesmas após 9.999 permutações por *Bootstrap*.

O Escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) com a delimitação dos polígonos reforça a distinção entre as amostras de “madeira sem nós” (1 a 5, em verde, base das árvores; 6 a 10, em roxo, do meio das árvores; 11 a 15, em azul claro, topo das árvores); e de “nós” (16 a 20, em vermelho, base das árvores; de 21 a 25, em azul escuro, do meio das árvores; e de 26 a 30, em rosa, do topo das árvores). Também por essa análise é evidente o claro gradiente determinado pelo Eixo 1, com valor absoluto (1), da esquerda para a direita, que distingue os grupos formados pelas amostras obtidas na “madeira sem nós” e outro formado pelas amostras obtidas nos “nós” (Figura 2.17).



**Figura 2.17:** Escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) em duas dimensões, a partir da distância Euclidiana simples, em grupos pareados, de partes de indivíduos adultos de *Pinus elliotii*, considerando amostras das traqueídes na “madeira sem nós”, formadas pelos polígonos: verde (base), roxo (meio) e azul claro (topo), à esquerda do gráfico; e as amostras dos “nós”, formadas pelos polígonos vermelhos (base), azul escuro (meio) e rosa (topo), à direita do gráfico. Variáveis consideradas: comprimento ( $\mu\text{m}$ ), diâmetro total ( $\mu\text{m}$ ); diâmetro do lume ( $\mu\text{m}$ ) e espessura da parede ( $\mu\text{m}$ ). Estresse = 0,000539 (Eixo 1 = 1; Eixo 2 = 0).

Ao delimitar as elipses de confiança dos dados de cada tipologia: “madeira sem nós” e “nós” caracterizadas *a priori*, identifica-se com clareza dois grupos. Apesar de existir certa sobreposição entre os subgrupos relacionados às porções dos troncos de onde foram extraídas as amostras (base, meio e topo), não é visualizada probabilidade de sobreposição (com uma confiança de 95%) entre a “madeira sem nós” e os “nós”. (Figura 2.18).



**Figura 2.18:** Escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) em duas dimensões, a partir da distância Euclidiana simples, em grupos pareados, de partes de indivíduos adultos de *Pinus elliottii*, considerando amostras das traqueídes na “madeira sem nós” (verde - base, roxo – meio, azul claro - topo); e com “nós”(vermelho-base, azul escuro – meio, rosa -topo).Variáveis consideradas: comprimento ( $\mu\text{m}$ ), diâmetro total ( $\mu\text{m}$ ); diâmetro do lume ( $\mu\text{m}$ ) e espessura da parede ( $\mu\text{m}$ ). Estresse = 0,000539 (Eixo 1 = 1; Eixo 2 = 0). Elipses de 95%, com cor associada a cada conjunto pré-estabelecido.

Visto que essa NMDS apresenta estresse aproximadamente igual zero, a mesma possibilita uma “ótima” interpretação (estresse abaixo de 2,5%; senso KRUSKAL, 1964) ou ainda uma interpretação “excelente” (abaixo de 5%, senso CLARKE, 1993). Dessa forma, pode-se inferir sobre a existência de diferenças entre a “madeira sem nós” e os “nós”, considerando os parâmetros analisados a partir das traqueídes.

A Análise de Similaridades (ANOSIM) e a MANOVA Não-Paramétrica (NPMANOVA ou PERMANOVA), corroboram as análises anteriores estimando

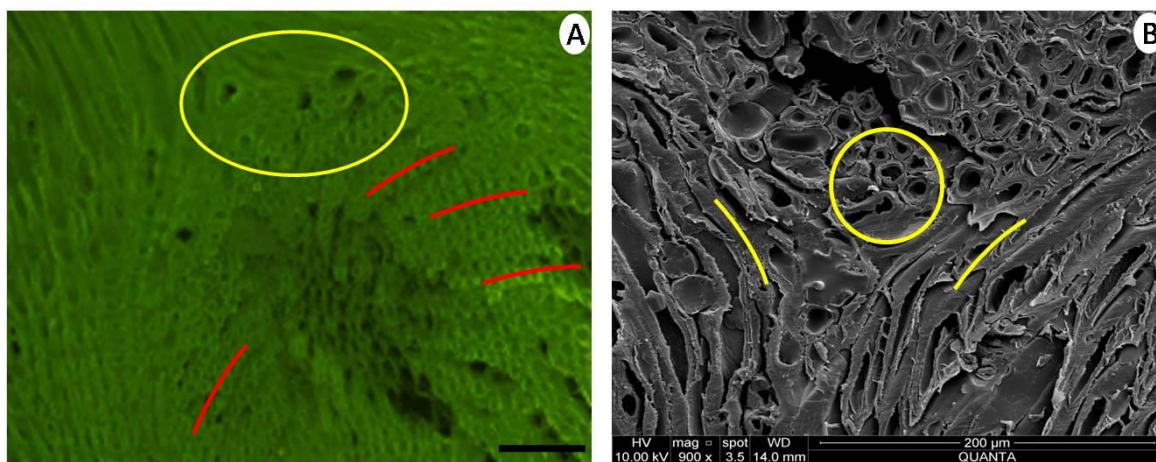
numericamente as diferenças entre os trechos de “madeira sem nós” e com “nós” considerando ainda as três porções dos troncos estabelecidas *à priori*: base, meio e topo (Tabelas 2.3).

**Tabela 2.3:** Matriz de significância (P) das distâncias Euclidianas simples entre as condições de “madeira sem nós” e “nós” (respectivamente as primeiras letras das siglas, ou seja, “M” e “N”); e as partes do tronco (base, meio e topo, respectivamente as segundas letras das siglas, ou seja, “B”, “M” e “T”); em indivíduos adultos de *Pinus elliottii*, considerando amostras de traqueídes. Variáveis consideradas: comprimento ( $\mu\text{m}$ ), diâmetro total ( $\mu\text{m}$ ); diâmetro do lume ( $\mu\text{m}$ ) e espessura da parede ( $\mu\text{m}$ ). 9.999 permutações.

<b>ANOSIM</b> (r = 0,8836; P = 0,0001)					
	MM	MT	NB	NM	NT
MB	0,0461	0,0081	0,0056	0,0079	0,0082
MM		0,0228	0,0082	0,0082	0,0063
MT			0,0091	0,0077	0,0066
NB				0,1050	0,0082
NM					0,0086
<b>NPMANOVA</b> (F = 315,4; P = 0,0001)					
	MM	MT	NB	NM	NT
MB	0,0386	0,0087	0,0079	0,0066	0,0057
MM		0,0248	0,0090	0,0084	0,0076
MT			0,0084	0,0082	0,0058
NB				0,0541	0,0071
NM					0,0070

#### 2.4.5 Desenvolvimento das traqueídes ao longo do galho (inserido no tronco)

Foi observado crescimento com orientação espiralada das traqueídes no início de formação do nó. Para essa avaliação, cortes histológicos foram feitos considerando a seção transversal do nó, em direção à medula do tronco da árvore. Esse formato espiralado foi observado majoritariamente em nós da região de topo. Na Figura 2.19 – A é possível observar o ponto (○) de transição entre o nó e a madeira, em que as traqueídes do nó são conectadas às traqueídes da madeira. Em (B) as traqueídes são evidenciadas em posicionamento perpendicular (○) as traqueídes da madeira.

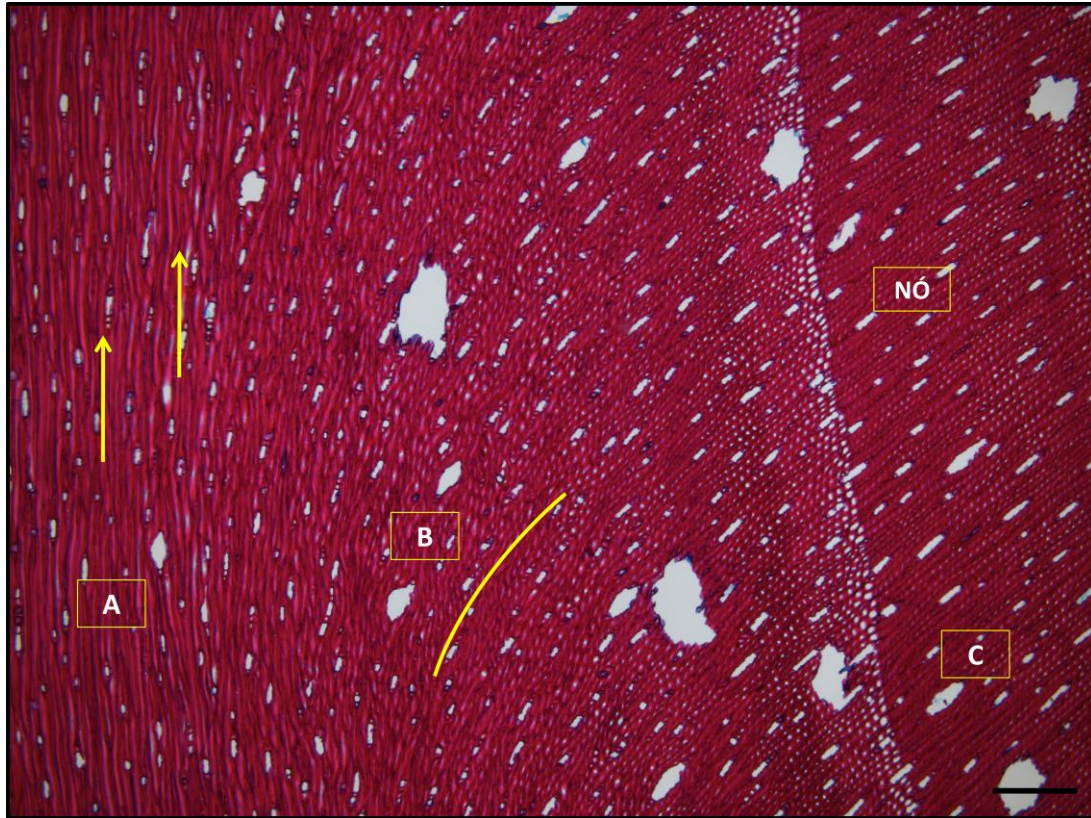


**Figura 2.19:** (A) - Traqueídes de nó em seção transversal observadas com autofluorescência (comprimento de onda de excitação em 470-490 nm; emissão em 515-565 nm), evidenciando a orientação espiralada das células (setas em vermelho) e transição nó-madeira (amarelo). Barra = 100 μm. B – Microscopia eletrônica de varredura. Detalhes da orientação transversal das traqueídes do nó, posicionadas perpendicularmente às traqueídes da madeira adjacente.

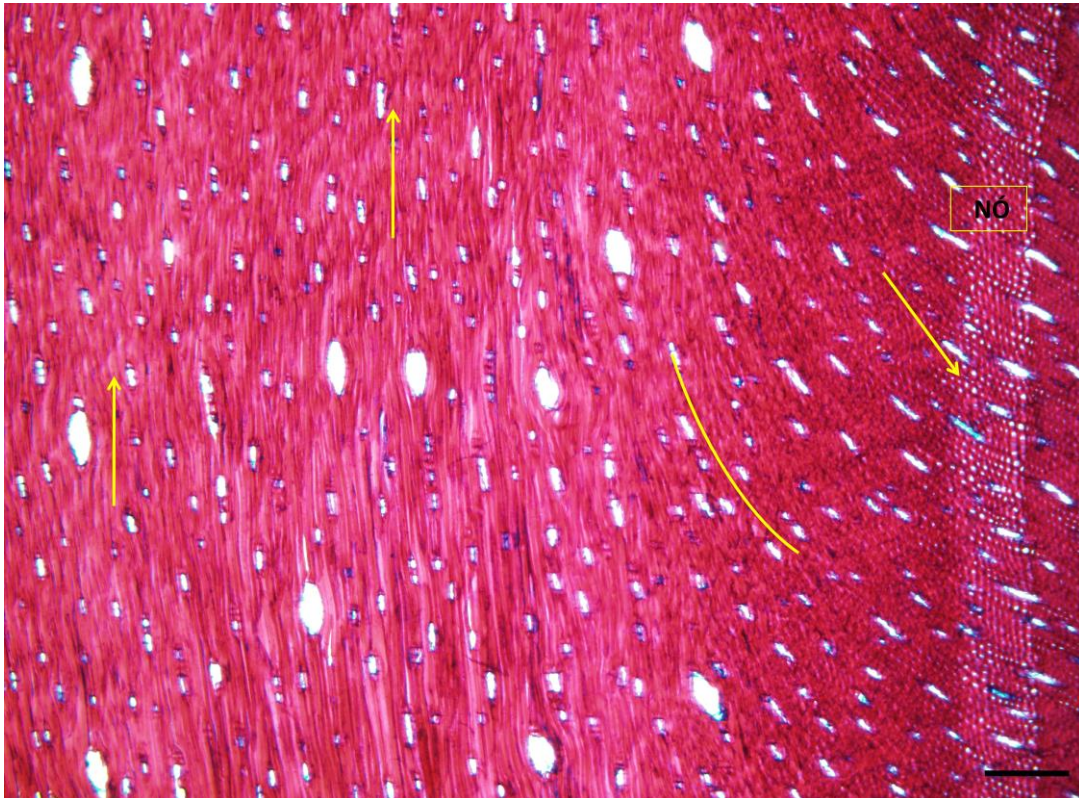
Em alguns nós, localizados na região de meio do tronco, a mesma situação foi observada; porém, em nós localizados na base do tronco não foi possível identificar a “torção” das células.



Na transição nó-madeira em seções de nó da região de base (Figura 2.20) foi observada espessura mais gradual e uniforme, enquanto regiões de meio e topo apresentaram traqueídes com espessamento mais heterogêneo (Figura 2.21).



**Figura 2.20:** zona de transição nó-madeira em *P. Elliottii* da região da base, evidenciando o padrão de crescimento das traqueídes entre o nó (vivo) e a madeira circundante (zona de transição). Em (A) direção tangencial do fuste; em (C) seção transversal das traqueídes de formação do nó, com distinção do anel de crescimento. Em (B) as células em grã inclinada. Barra=100  $\mu$ m



**Figura 2.21:** zona de transição nó-madeira, evidenciando espessamento menos uniforme observado na região de topo. Barra=100  $\mu$ m

Traqueídes com extremidades distorcidas e bifurcadas foram largamente observadas nas regiões de nó, principalmente na base. Traqueídes com extremidades distorcidas são observadas ocasionalmente no lenho de compressão (EVERT, 2013). Enquanto alguns autores afirmam que no sentido axial as espécies do gênero *Pinus* tendem a apresentar um aumento do comprimento de traqueídes até o meio do tronco, decrescendo à medida que se aproximam da copa (MENDONÇA, 1982; MUÑIZ, 1993), outros sugerem que a madeira da base pode apresentar elementos de menor comprimento, com pouco diâmetro e espessuras mais finas, ao passo que a madeira correspondente ao meio da árvore apresenta os maiores incrementos destes elementos. Souza *et al.* (2005) analisando parâmetros anatômicos de traqueídes axiais das madeiras de quatro procedências de *Pinus* verificaram que o incremento de comprimento de traqueídes pode apresentar valor linear crescente da base em direção ao topo. O diâmetro do lume e espessura da parede podem se revelar constantes ao longo do tronco, enquanto o diâmetro total de traqueídes pode variar de forma irregular, apresentando maiores valores, hora na base, hora no topo (SOUZA *et al.*, 2005).



## 2.5 CONCLUSÃO

- 1 - As dimensões das traqueídes no nó são diferentes da madeira ao redor.
- 2 - Existe um gradiente ao longo do tronco nos parâmetros de desenvolvimento das traqueídes, que diminuem em direção ao ápice da planta.
- 3 - Traqueídes de nós apresentam menor incremento, mas não têm crescimento semelhante ao observado nos da madeira livre de nós.
- 4 - Quanto mais próximo do topo, maior o crescimento em espiral de estruturas que formam o galho.

## 2.6 REFERÊNCIAS

- ALONI, R. The Role of Hormones in Controlling Vascular Differentiation. **Plant Cell Monographs**, v. 20, p. 99-139, 2013.
- ANDRADE, A., CELEDÓN, P. A. F., LABETE, C. A. O proteoma da madeira: o uso da proteômica no estudo da formação da madeira. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 36, p. 10-17, 2006.
- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. **Anatomia vegetal**. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 2003. 438 p.
- ARANGO, H. G. **Bioestatística teórica e computacional**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 235 p.
- AUDREU, J. P.; RINNHOFFER, A. Modeling knot geometry in Norway Spruce from industrial CT images. **Computer Science**, v. 2749, p. 786-791, 2003.
- BAILEY, I. W. Evolution of the tracheary tissue of land plants. **American Journal of Botany**, v. 40, n. 1, p. 4-8, 1953.
- BALLARIN, A. W.; PALMA, H. A. L. Propriedades de resistência e rigidez da madeira juvenil e adulta de *Pinus taeda* L. **Árvore**, v. 27, n. 3, p. 371-380, 2003.
- BARRICHELO, L. E. G. **Estudo das características físicas, anatômicas e químicas da madeira de *Pinus caribaea* Mor. Var *hondurensis* Barr. e Gof. para a produção de celulose kraft**. 167 p. Tese (Livre-Docência em Ciências Florestais) - Departamento de Ciências Florestais, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1979.
- BENDTSEN, B.; SENFT, J. Mechanical and anatomical properties in individual growth rings of plantation-grown eastern cottonwood and Loblolly Pine. **Wood and Fiber Science**, v.18, n.1, p.21-38, 1986.
- BUKSNOWITZ, C.; HACKSPIEL, C.; HOFSTETTER, K.; MÜLLER, U.; GINDL, W.; TEISCHINGER, A.; KONNERTH, J. Knots in trees: strain distribution in a naturally optimised structure. **Wood Science and Technology**, v. 44, p. 389-398, 2010.
- CORADIN, V. T. R.; MUÑIZ, G. I. B. Normas de procedimentos em estudos de anatomia de madeira; 1: Angiospermae; 2: Gimnospermae. 19 p. **Serie Técnica** - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. 1991.
- DEMASON, D. A. Auxin-cytokinin and auxin-gibberellin interactions during morphogenesis of the compound leaves of pea (*Pisum sativum*). **Planta**, v. 222, p. 151-166, 2005.
- EKLÖF, S.; ASTOT, C.; BLACKWELL J.; MORITZ, T.; OLSSON, O.; SANDBERG, G. Auxin-cytokinin interactions in wild-type and transgenic tobacco. **Plant Cell Physiology**, v. 38, p. 225-235, 1997.

EMERY R. J. N.; LONGNECKER, N. E.; ATKINS, C. A. Branch development in *Lupinus angustifolius* L. Relationship with endogenous ABA, IAA and cytokinins in axillary and main stem buds. **Journal of Experimental Botany**, v. 49, n. 320, p. 555-562, 1998.

EVERT, R. F. **Anatomia das plantas de Esau: meristemas, células e tecidos do corpo da planta: sua estrutura, função e desenvolvimento**. Blucher, 726 p. 2013.

FOELKEL, E. Defeitos intrínsecos mais comuns nas toras e madeiras de *Pinus* sem beneficiamento. **PinusLetter**, n. 15. 2009. Disponível em: <<http://www.celso-foelkel.com.br/pinus>>. Acesso em: 05 set. 2013.

GRAPHPAD SOFTWARE. **Graphpad Prism 6.exe**. Versão 6.00. San Diego, Califórnia, USA: GRAPHPAD SOFTWARE, 2012. Plataforma Windows. Disponível em <<http://www.graphpad.com/prism/Prism.htm>>. Acesso em: 26 jul. 2013.

GUINDOS, P.; GUAITA, M. A three-dimensional wood material model to simulate the behavior of wood with any type of knot at the macro-scale **Wood Science and Technology**, v.47, p. 585–599, 2013.

HACKE, U. G.; SPERRY, J. S.; PITTERMANN, J. Analysis of circular bordered pit function II. Gymnosperm tracheids with torus-margo pit membranes. **American Journal of Botany**, n. 91, v. 3, p. 386-400, 2004.

HAMMER, O.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST: **Paleontological Statistic software package for education and data analysis**. Paleontological Eletronica, v. 4, n. 1, 2001. 9 p.

HOADLEY, R. B. **Understanding wood: a craftsman's guide to wood technology**. The Taunton Press, 293 p, 2000.

IAWA COMMITTEE. International Association of Wood Anatomists. List of microscopic features for hardwood identification. **IAWA**, n. 10, p. 220-332, 1989.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. McGraw-Hill, New York, 1940.

JUNGNIKL, K.; GOEBBELS, J.; BURGERT, I.; FRATZL, P. The role of material properties for the mechanical adaptation at branch junctions. **Trees**, v. 23, n. 3, p. 605-610, 2009.

KOCH, G. Topochemical characterization of lignins and phenolic extractives in wood cell walls. **Lenzinger Berichte**, v. 83, p. 6-12, 2004.

LUKACEVIC, M.; FÜSSL, J. Numerical simulation tool for wooden boards with a physically based approach to identify structural failure. **European Journal of Wood and Wood Products**, v. 72, n. 4, p. 497-508, 2014

MARCHIORO, L. E. T. **Produção de ácido indol acético e derivados por bactérias fixadoras de nitrogênio**. 74 p. Dissertação (Mestrado em Ciências

Biológicas) - Setor de Ciência Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

MENDONÇA, M. A. **Características da madeira de *Pinus elliottii* com diferentes idades e propriedade do papel.** 124 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1982.

MUÑIZ, G. I. B. **Caracterização e Desenvolvimento de Modelos para Estimar as Propriedades e o Comportamento na Secagem da Madeira de *Pinus elliottii* Engelm. e *Pinus taeda* L.** Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Setor de Ciências Agrária, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1993.

NAPOLI, C. A.; BEVERIDGE, C. A.; SNOWDEN, K. C. Reevaluating concepts of apical dominance and the control of axillary bud outgrowth. **Current Topics in Developmental Biology**, v. 44, p. 127–169, 1999.

NICOLINI, E.; CHANSON, B.; BONNE, F. Stem growth and epicormic branch formation in understorey beech trees (*Fagus sylvatica* L.). **Annals of Botany**, v. 87, p. 737-750, 2001.

PALERMO, G. P. M.; LATORRACA, J. V. F.; SEVERO, E. T. D.; NASCIMENTO, A. M.; RESENDE, M. A. Delimitação entre os lenhos juvenil e adulto de *Pinus elliottii* ENGELM. **Árvore**, v. 37, n. 1, p. 191-200, 2013.

PANSHIN, A.J.; DE ZEEUW, C. **Textbook of Wood technology.** New York, Mc Graw-Hill. 1980.

PEREIRA, R. P. W.; MONTEIRO, M. B. O.; ABREU, H. S. Os fitohormônios na formação da madeira. **Floresta e Ambiente**, v. 11, n. 2, p. 40-47, 2004.

PLOMION, C.; LEPROVOST, C.; STOKES, A. Wood formation in trees. **Plant Physiology**, v. 127, p. 1513-1523, 2001.

REINHARDT, D.; KUHLEMEIER, C. Plant architecture. **EMBO reports**, v. 3, n. 9, p. 805 – 904, 2002.

SASS, J.E. **Botanical microtechnique.** 3 ed. The Iowa State University Press, Ames. 1958.

SCHMITZ, G.; THERES, K. Genetic control of branching in Arabidopsis and tomato. **Plant Biology**, v. 2, p. 51-55, 1999.

SHIGO A. L. How tree branches are attached to trunks. **Canadian Journal of Botany**, n. 63, v. 8, p.1391-1401, 1985.

SHIMIZU-SATO; MORI, H. Control of outgrowth and dormancy in axillary buds sae. **Plant Physiology**, v. 127, p. 1405-1413, 2001.

SHIMOYAMA, V. R. S. **Estimativas de propriedades da madeira de *Pinus taeda* através do método não destrutivo emissão de ondas de tensão, visando a geração de produtos de alto valor agregado.** 151 p. Tese

(Doutorado em Engenharia Florestal) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

SHIMIZU-SATO; MORI, H. Control of outgrowth and dormancy in axillary buds sae. **Plant Physiology**, v. 127, p. 1405-1413, 2001.

SHIMOYAMA, V. R. S.; WIECHETECK, M. S. S. Características da madeira e da pasta termomecânica de *Pinus patula* var. *tecunumanii* para produção de papel imprensa. **Série Técnica IPEF**, Piracicaba, v. 9, n. 27, p. 63-80, 1993.

SOUZA, M. R.; VICENTE, A. T. V.; MOURA, V. P. G.; FIORENTINI, E. A. Análise de parâmetros anatômicos de traqueóides axiais das madeiras de quatro procedências de Pinus. 22p. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, n. 97, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005.

SUNDBERG, B.; TUOMINEN, H.; LITTLE, C. H. A. Effects of indole-3-acetic acid (IAA) transport inhibitors N-1- naphthylphthalamic acid and morphactin on endogenous IAA dynamics in relation to compression wood formation in 1-yr-old *Pinus sylvestris* (L.) shoots. **Plant Physiology**, v. 106, p. 469-476, 1994.

TAKENAKA, A. Shoot growth responses to light microenvironment and correlative inhibition in tree seedlings under a forest canopy. **Tree Physiology**, v. 20, p. 987-991, 2000.

TELEWSKI, F. W. Structure and function of flexure wood in *Abies fraseri*. **Tree Physiology**, v. 5, n. 1, p. 113-121, 1989.

TONG, Q.; DUCHESNE, I.; BELLEY, D.; BEAUDOIN, M.; SWIFT, E. Characterization of knots in plantation white spruce. **Wood and Fiber Science**, n. 45, p. 84-97, 2013.

VIDAURRE; G.; LOMBARDI, L. R.; OLIVEIRA, J. T. S.; ARANTES, M. D. C. Lenho Juvenil e Adulto e as Propriedades da Madeira. **Floresta e Ambiente**, v. 18, n. 4, p. 469-480, 2011.

ZIMMERMANN, M. H.; D. POTTER. Vessel-length distributions in branches, stem, and roots of *Acer rubrum* L. **IAWA**, n. 3, p. 103-109, 1982.

ZOBEL, B. J.; BUIJTENEN, J. P. **Wood variation: its causes and control**. 1989, 363 p.

## CAPÍTULO 3

### **3 ESTUDO QUÍMICO DE LIGNINA E CELULOSE EM MADEIRA DE NÓS DE *Pinus elliottii* var. *elliottii***

### 3.1 INTRODUÇÃO

São considerados componentes químicos fundamentais da madeira, celulose, hemicelulose e lignina que variam, entre outros fatores, devido a espécie, tratamentos silviculturais, características anatômicas inerentes a cada indivíduo e o posicionamento ao longo da árvore. A heterogeneidade química da madeira, ao mesmo tempo em que amplia as possibilidades de utilização, ocasiona transtornos para a indústria de transformação e processamento, à medida que interfere pejorativamente em propriedades tecnológicas requeridas para o uso da madeira. Variação de lignina, celulose e hemicelulose influenciam, por exemplo, a higroscopicidade, o comportamento das variações dimensionais e consequentemente a qualidade da madeira. Enquanto a hemicelulose tem maior capacidade em absorver água e aumentar a variação dimensional, a lignina, por ser essencialmente hidrofóbica, promove ação contrária. Quanto maior o teor de lignina na madeira, maior será a resistência desta em absorver água da atmosfera e menor a variação dimensional (OLIVEIRA, 1997; SILVA, 2002; GATTO, 2008).

A densidade básica é outro fator considerado para avaliação da qualidade da madeira, sendo uma das propriedades mais importante e mais estudada por influenciar diretamente a utilização da madeira. Quanto maior a deposição de lignina na parede celular, melhores os valores de densidade; característica requerida principalmente para uso estrutural da madeira (BRITEZ e NOGUEIRA, 2006).

O conhecimento do mecanismo de formação da lignina ainda requer muitas pesquisas de natureza teórica e experimental, principalmente relacionando a lignificação com a qualidade do produto final nos diversos segmentos do setor florestal. O controle do teor e da modulação da biossíntese da lignina, por exemplo, oferece um avanço tecnológico para parcial remoção da lignina de tecidos lenhosos, processo que requer muitos investimentos, especialmente devido à sua importância na indústria de polpa celulósica (ABREU *et al*, 2004). A redução do teor de lignina, que já esteve associada à redução da capacidade de resistência da árvore pode ser estudada por outras perspectivas. Estudos demonstraram que ramos jovens são capazes de desenvolver mecanismos compensatórios para manter as propriedades estruturais, biofísicas e

biomecânicas dos tecidos mesmo com uma redução do teor de lignina em 64% (PATTEN *et al.*, 2007).

A hipótese da influência da lignina na formação de rachaduras na madeira (ABREU *et al.*, 2004) demonstra a necessidade de estudos mais aprofundados a respeito da lignificação da parede celular. Uma vez que o nó e seu entorno são largamente acometidos por rachaduras, o estudo da lignina nessas regiões é justificado pela necessidade de ampliação da qualidade da madeira. Em vista disso o objetivo deste capítulo é apresentar um estudo químico da lignina, analisando possíveis alterações na formação da lignina de madeira de nós e a análise do gradiente de concentração de lignina entre a madeira livre de nó, a zona de transição nó-madeira e o nó, da espécie *P. elliottii* var. *elliottii*.



### 3.2 REVISÃO DE LITERATURA

Devido à elevada complexidade da madeira e os transtornos que sua heterogeneidade causa para a indústria de transformação e processamento, o exame da constituição desse material deve ser amplamente investigado, uma vez que suas propriedades tecnológicas estão intimamente relacionadas, além dos elementos anatômicos de formação, com os constituintes químicos (LOBÃO *et al.*, 2004).

No processo de divisão celular, a primeira membrana de separação que surge entre o par de novas células é a lamela média, composta principalmente de pectato de cálcio e magnésio, cuja função é unir as células umas às outras. Sobre esta membrana acumulam-se microfibrilas de celulose formando uma trama irregular que constitui a parede primária, dotada de grande elasticidade e composta principalmente de pectina, hemicelulose e as microfibrilas de celulose (BURGER e RICHTER, 1991). Não há diferenças significativas de composição química da madeira entre as diferentes espécies, sendo considerados componentes fundamentais, além de celulose e hemiceluloses, a lignina e os extrativos (OLIVEIRA, 1997; SILVA, 2002).

Muitas propriedades físicas e mecânicas da madeira dependem da presença da lignina (BRITEZ e NOGUEIRA, 2006). Exemplo disto é a densidade básica. Definida como a massa seca por unidade de volume saturado (EVANS e ILIC, 2001) é a forma mais utilizada para expressar características físicas da madeira (VALE *et al.*, 2010) e está diretamente relacionada ao volume vazio dos poros (BURGER e RICHTER, 1991). Em termos químicos, a densidade é reflexo da porcentagem dos diferentes constituintes (celulose, hemiceluloses, lignina e extrativos) da madeira. Scanavaca-Júnior e Garcia (2004), afirmam que a variabilidade da maior parte das propriedades mecânicas da madeira pode ser estimada com base na variação da densidade. Para Lobão *et al.* (2004), isso pode ser explicado porque as propriedades de resistência à flexão estática e o seu MOE (módulo de elasticidade) estão correlacionadas com a densidade, que está relacionada diretamente com as dimensões e composição química da célula. Estes autores afirmam que a resistência da madeira a alguma forma particular de aplicação de esforços é função da quantidade da parede celular e da proporção

dos componentes químicos das células estabelecidos em cada espécie. O teor de umidade, outro aspecto que constitui parâmetro de avaliação da qualidade da madeira, possui relação com a lignina. Alguns autores constataram que a umidade de equilíbrio depende de fatores como espécie, teor de celulose, quantidade de extrativos e porcentagem de lignina, entre outros (GATTO *et al.*, 2008). Uma vez que a lignina é responsável pela impermeabilização da parede celular (MOURA, 2008), supostamente, células com maiores teores de impregnação por lignina apresentam menor absorção de umidade do ambiente, ocasionando maior resistência mecânica à madeira.

### 3.2.1 Lignina

Em estudos realizados há mais de 150 anos, foi verificado o interesse científico e econômico sobre a lignina (SALIBA *et al.*, 2001). Anselm Payen (1838) foi o primeiro a reconhecer a natureza composta da madeira, relatando a existência de um “material incrustante” rico em carbono e incorporado à celulose, posteriormente chamado de lignina por F. Schulze (1865) (ADLER, 1977). Peter Klason (1920) propôs que a lignina seria uma substância macromolecular constituída de unidades do álcool coniferílico, e Freudenberg (1968) propôs a primeira fórmula química para esta substância (SJOSTROM, 1993). Diversos autores afirmam que a lignina permitiu a adaptação das plantas aquáticas ao ambiente terrestre (MONTIES, 1989; BARCELÓ, 1997; INOUE *et al.*, 1998). Acreditava-se que esta substância estava presente apenas em plantas vasculares e que vegetais primitivos como fungos, líquens e algas, não seriam lignificados (FENGEL e WEGENER, 1984). Porém, em pesquisa com a alga vermelha *Calliarthron cheilosporioides* (Corallinales, Rhodophyta) foi observada a presença de parede secundária e lignina (MARTONE *et al.*, 2009), o que demonstra que, mesmo com todos os estudos envolvendo esse polímero, ainda existem muitos aspectos a serem avaliados.

Lignina, do latim “*lignun*”, que significa madeira é um termo aplicado às macromoléculas que apresentam composição básica formada por unidades cumarílica, guaiacílica e siringílica (ABREU *et al.*, 2009). É detectada em maior

quantidade na parede secundária de células, sobretudo nas fibras, vasos e traqueídes do xilema (BROWNING, 1967). Na periderme ocorre em menor quantidade associada à suberina onde age como uma barreira contra patógenos (GUIMARÃES *et al.*, 2003). É um componente estrutural, responsável por garantir rigidez e dureza ao conjunto de cadeias de celulose (BRITEZ e NOGUEIRA, 2006) e que confere à madeira propriedades de elasticidade e resistência; tendo como principais funções nas plantas, a capacidade de unir as células umas as outras, a redução da permeabilidade da parede celular à água, a proteção da madeira contra microorganismos e o suporte mecânico (FENGEL e WEGENER 2003; KLOCK *et al.*, 2005). Apresenta diferentes composições para coníferas e folhosas; sendo encontrada em maior quantidade em coníferas (CARVALHO *et al.*, 2009). Impossível de ser removida quantitativamente da estrutura da madeira sem considerável degradação, auxilia na redução de mudanças dimensionais das células e por ser bastante insolúvel, apresenta menor capacidade em absorver água que a celulose.

A deposição de lignina nos tecidos vegetais é denominada lignificação e é uma das fases finais de diferenciação das células do xilema, onde a lignina é depositada dentro da matriz de carboidratos da parede celular pelo preenchimento dos vazios interlamelares; tem início nos cantos da célula na lamela média e nas regiões S<sub>1</sub>, e se espalha através da parede secundária em direção ao lume (DONALDSON, 2001), sendo variável entre as espécies, tecidos, estágio de desenvolvimento e localização celular.

Diversos autores afirmam que as propriedades tecnológicas da madeira são influenciadas diretamente pela quantidade e tipo de lignina presente na célula (FOSKET, 1994; LOBÃO *et al.*, 2004; PILATE *et al.*, 2004). Segundo Boyd (1972) e Sales (1986), o surgimento das tensões de crescimento está intimamente ligado à lignificação das paredes celulares, uma vez que a lignina provoca o aumento irreversível de volume na parede secundária da célula. Bidlack *et al.* (1992) acreditam que a composição, estrutura molecular e orientação espacial da lignina contribuem significativamente para as propriedades da madeira. Para Moura e Brito (2001), o lenho de compressão, característico das coníferas, apresenta menor higroscopicidade por conter maior teor de lignina e menor teor de celulose, enquanto Abreu *et al.* (2009) supõem que uma mudança induzida em relação ao

tipo de lignina (guaiacilica ou siringilica) pode estar relacionada com o aumento de resistência da madeira.

Além da relação com as propriedades tecnológicas supracitada, a lignina também pode estar relacionada a alguns defeitos da madeira. Micic *et al.* (2000) sugerem a existência de estruturas moleculares da lignina em forma helicoidal e sugerem a hipótese de influência da lignina nas rachaduras. Para Abreu *et al.* (2009), diferentes desenhos estruturais em regiões de interface (parênquima x parênquima) são formados de acordo com a estrutura molecular da lignina e podem levar a comportamentos das células que contribuem para aumentar ou diminuir a resistência da madeira a defeitos.

Já na década de 1930, estudos com nós foram relatados por conter concentrações elevadas de produtos extraíveis (HÄGGLUND e LARSSON, 1937, citado por HOLMBOM *et al.*, 2003). Boutelje (1966) determinou a distribuição de extrativos totais em troncos, ramos e nós de abeto (HOLMBOM *et al.*, 2003). Willför *et al.*, (2003) constataram que extrato de nós de *Pinus silvestris* (L.), espécie predominante na Europa, contém 0,4-2,9% mais lignina que a madeira adjacente. A lignina é encontrada principalmente nos nós dentro do tronco, diminuindo sua concentração à medida que sua localização se projeta para fora, nos ramos e variando a concentração entre nós da mesma árvore (WILLFÖR *et al.*, 2003). Em um estudo com mais de 30 nós provenientes de sete árvores de abeto da Noruega, esses autores encontraram de seis a 24% de ligninas na constituição dos nós. Eles verificaram que a concentração de ligninas no tecido do nó pode chegar a 100 vezes a quantidade observada no cerne do caule adjacente.

### 3.2.2 Parâmetros que influenciam a variação da lignina

Diferentes tipos de estresses abióticos, como deficiência mineral, déficit hídrico, radiação UV-B, atmosfera controlada de O<sub>2</sub>, vento e baixas temperaturas são capazes de produzir respostas dos vegetais quanto à formação da lignina. Chen *et al.* (2002) e Lin *et al.* (2005), demonstraram em seus experimentos com *Raphanus sativus* e *Glycine max* (soja) que altas concentrações de cobre (Cu<sup>+2</sup>) induzem a biossíntese de ligninas a partir do aumento da atividade de

peroxidases e lacases (enzimas que participam da biossíntese da lignina no vegetal), promovendo uma menor incidência de lignificação celular. Na ausência de cálcio ( $\text{Ca}^{+2}$ ) foi relatado o aumento na atividade de enzimas específicas com o consequente acúmulo de lignina e outras substâncias fenólicas (TEIXEIRA *et al.*, 2006). Ghanati *et al.* (2005) observaram que a deficiência ou estresse mineral é capaz de promover uma maior ou menor lignificação dos tecidos lenhosos. Tratamentos com altas concentrações de boro provocaram o aumento dos conteúdos de lignina. Foi demonstrado que raízes de plantas de milho (*Zea mays*) em estresse hídrico aumentam a expressão de dois genes envolvidos na biossíntese de ligninas (FAN *et al.*, 2006). Esses autores verificaram que plantas com crescimento foliar comprometido devido ao estresse hídrico, mudam a zona de maior expressão de lignificação foliar em direção à base da folha. Para Vincent *et al.* (2005) há uma diminuição dos níveis de lignina, como uma medida adaptativa à seca, uma vez que a manutenção de altos níveis de lignina na ausência de crescimento poderia conduzir a lignificação para a região de alongamento da folha, comprometendo o retorno do crescimento após a re-hidratação.

O aumento da concentração de lignina foi relacionado à aclimação de *Phalaenopsis* a diferentes níveis de fótons de luz (ALI *et al.*, 2006). Hilal *et al.* (2004) acreditam que o aumento da atividade de peroxidases e de compostos fenólicos em tecidos epidérmicos de *Chenopodium quinoa* expostos a doses crescentes de radiação UVB seja um mecanismo de proteção utilizado por estas plantas. Moller *et al.* (2006) verificaram um aumento na concentração de lignina em caules de *Pinus radiata* que foram transferidos do escuro para um fotoperíodo de 16 horas. Su *et al.* (2005) verificaram um efeito da luz no acúmulo de lignina em *Glycine max*. Outros autores também demonstraram o mesmo efeito positivo da luz na biossíntese de ligninas a partir do aumento da atividade de enzimas envolvidas nesta rota (CHEN *et al.*, 2002; HILAL *et al.*, 2004).

A participação das ligninas em resposta a estresse causado por vento foi observada no trabalho de Hawkins e Boudet (2003). Plantas de *Eucalyptus dunnii* estressadas com vento tiveram aumento na atividade de enzimas envolvidas na etapa final de biossíntese dos monolignóis precursores de ligninas. Observou-se, também, em resposta ao vento, a formação de uma “zona de barreira”, a partir do reforço das paredes celulares com lignina. Kim *et al.* (2006) demonstraram haver

um aumento na expressão do gene para ferulato 5- Hidroxilase (F5H), uma enzima envolvida na rota de biossíntese de ligninas em plantas expostas ao vento. Foram relatados também aumentos quantitativos de lignina (KUSUMOTO, 2005) e alterações na distribuição destas ao longo dos tecidos estressados com vento (FRANKENSTEIN, 2006).

Tratamentos de baixas temperaturas também são capazes de alterar os teores de ligninas e de seus precursores em inúmeras espécies. Isto foi demonstrado em plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.) que expostas ao frio aumentaram o acúmulo de compostos fenólicos solúveis em suas folhas (OLENICHENKO e ZAGOSKINA, 2005) e de ligninas em raízes (ZAGOSKINA *et al.*, 2005). Foi constatado, em raízes de soja, um aumento da atividade de enzimas específicas da lignificação e dos níveis de ácido ferúlico, siríngico e *p*-hidroxibenzóico (envolvidos no processo de formação da lignina) durante a aclimação ao frio (JANAS *et al.*, 2000; JANAS *et al.*, 2002). RIGATTO *et al.* (2004), ao estudar *Pinus taeda*, provenientes de oito sítios com solos diferentes, concluiu que os atributos físicos do solo têm grande influência nas propriedades da madeira.

A idade é outro importante fator que influencia o teor de lignina (TRUGILHO *et al.*, 2009). Silva *et al.*, (2005) ao estudarem a influência da idade e da posição ao longo do tronco na composição química da madeira de *Eucalyptus grandis* Hill ex. Maiden, verificaram que o teor de lignina total apresentou tendência crescente em relação à idade e à posição longitudinal, sentido base–topo; e que madeira de árvores mais jovens, tende a apresentar valores mais reduzidos que os encontrados nas madeiras mais maduras. Segundo estes autores existem um aumento sistemático do teor de lignina total da madeira com a idade, havendo uma tendência de estabilização, após certa idade da árvore.

### 3.2.3 Celulose

Assim como a lignina, os primeiros registros de pesquisas científicas a respeito da celulose estão associados ao trabalho do agricultor francês Anselm Payen, que introduziu o termo celulose pela primeira vez em 1842 para denotar os polissacarídeos estruturais do tecido vegetal. Inicialmente acreditava se tratar

de uma forma isolada, com composição elementar semelhante ao dos sacarídeos. Com o avanço dos métodos de discriminação entre os monossacarídeos, a celulose passou a ser reconhecida como uma forma agregada sendo, a partir das primeiras décadas do século XX, reconhecida como biopolímero linear. Embora seja o componente dominante da maioria das espécies de plantas e tenha um número expressivo de materiais à base de celulose fazendo parte da vida diária do ser humano há muitos milênios, a compreensão de sua natureza permanece incompleta (ATALLA, 1999). O acúmulo de observações adicionais sobre celulosas de uma variedade cada vez maior de fontes, e o desenvolvimento de novas estruturas conceituais para interpretar o comportamento dessa macromolécula, impulsiona o progresso na caracterização da celulose e pode ser relacionado com os avanços de métodos de análise química (NISHIYAMA *et al.*, 2002).

A celulose é o componente majoritário da madeira, perfazendo aproximadamente a metade tanto de madeiras de coníferas, como de folhosas (FENGEL e WEGENER, 2003). Pode ser brevemente caracterizada como um polímero linear de alto peso molecular, constituído exclusivamente de  $\beta$ -D-glucose, onde uma única molécula pode atingir um micrômetro de comprimento (OLIVEIRA, 2009). Devido às suas propriedades químicas, físicas, e à sua estrutura supramolecular, preenche sua função como o principal componente da parede celular dos vegetais (KLOCK *et al.*, 2005), sendo depositada como parede celular secundária nas regiões S1, S2 e S3 (WARDROP e PRESTON, 1947) durante a formação das traqueídes.

Quanto à organização estrutural, a celulose pode ser encontrada de duas formas distintas: amorfa ou cristalina (WILKIE, 1961). A região amorfa apresenta organização similar à hemicelulose, sendo responsável pela absorção de moléculas de água, devido aos espaços vazios na sua estrutura (NISHIYAMA *et al.*, 2002). A celulose cristalina corresponde a dois terços da celulose presente na madeira e caracteriza-se por ser mais robusta e resistente ao calor, enquanto a amorfa é mais sensível, assumindo, também nesse aspecto, característica similar à hemicelulose (OLIVEIRA, 2009). Fengel e Wegener, (2003) afirmam que a combinação calor + água possibilita a conversão de região amorfa para região cristalina o que dificulta a estimativa do conteúdo de hemicelulose presente na madeira. Entre a região amorfa e cristalina não existem fronteiras bem definidas,

mas, existe uma transição de arranjo das cadeias de celulose para o estado ordenado ou amorfo (MOKFIENSKI, 2004).

A reatividade da celulose à ação de compostos químicos e enzimas é influenciada diretamente pelo seu percentual de cristalinidade, sendo o aumento da parte cristalina associado à reorganização da celulose amorfa combinado com sua parcial degradação (STAM, 1964). Quanto mais cristalina a estrutura da celulose, mais limitado será o acesso dos compostos aos grupos funcionais e às ligações químicas (THYGESEN *et al.*, 2005). A cristalinidade da celulose é um fator importante que impacta as propriedades da madeira, alterando o direcionamento da produção e definindo, inclusive, a qualidade do produto final. O índice de cristalinidade corresponde ao valor da relação entre a região cristalina e gelatinosa de uma determinada unidade microfibrilar e também pode interferir na acessibilidade e solubilidade da celulose (DUFRESNE e BELGACEM, 2013). Os métodos mais utilizados e que apresentam avaliação mais precisa na avaliação da cristalinidade são o da difração por Raios-X (XRD) e RMN, sendo os espectros de  $^{13}\text{C}$  no estado sólido CP/MAS grandemente utilizados para observar os níveis de cristalinidade da molécula (PARK *et al.*, 2010).

Assim como a lignina, a celulose apresenta estreita relação com as propriedades tecnológicas de produtos da madeira. A resistência à tração da fibra e o módulo de elasticidade de peças de madeira dependem e variam de acordo com o conteúdo de celulose presente nas células (KLINKE *et al.*, 2000). Segundo Thygesen *et al.* (2005), reduzidos teores de celulose e maiores lumes celulares resultam em baixa resistência da fibra à tração; e esta diminuição da qualidade está diretamente relacionada à cristalinidade da celulose. A estabilidade térmica e a baixa reatividade da madeira também estão diretamente relacionadas à cristalinidade da celulose (OLIVEIRA, 2009). Sahlberg (1995) estudando a influência das fibras de nós sobre as propriedades termomecânicas da polpa de *Picea abies* verificou que lenços produzidos a partir de polpa com fibras de nós apresentaram menor resistência, menor absorção de luz, e propriedades da superfície inferiores aos lenços produzidos com polpa livres de fibras de nós. Para a autora estes efeitos estariam relacionados à composição química e as propriedades morfológicas dos nós; no entanto, segundo ela, a ausência de estudos referentes a tais propriedades do nó da madeira inviabilizou maior detalhamento do estudo.



### 3.2.4 Composição química dos nós e perspectiva de utilização

Apesar do predomínio de pesquisas em áreas voltadas para a tecnologia de produtos florestais, outras áreas de pesquisa vêm demonstrando interesse no potencial econômico de nós. O uso de metabólitos de plantas em produtos para cuidados pessoais, alimentos funcionais e novos medicamentos leva ao interesse pelo isolamento e caracterização desses compostos (TURLEY *et al.*, 2006). Materiais da árvore como madeira, folhas e cascas estão sendo estudados por conter antioxidantes fenólicos naturais e o nó de madeira, por conter grandes quantidades de compostos fenólicos, como Ligninas, Lignanas, Estilbenos e Flavonóides, também despertam interesse de indústrias farmacêuticas e alimentícias (HOLMBOM *et al.*, 2003).

Extratos de nós de madeira macia são um recurso valioso, com potencial de utilização em alimentos, produtos farmacêuticos e biocidas naturais (PHELAN *et al.*, 2009). Espécies de pinheiros contêm uma elevada percentagem de Estilbenos nos nós, enquanto que os flavonóides são abundantes em nós de determinadas espécies de madeira dura (HOLMBOM *et al.*, 2003). Phelan *et al.*, (2009) avaliando extratos de nós de *Pinus sitchensis* (Bong.) Carrière e *P. banksiana* Lamb., verificaram diferenças entre teores e tipos de lignanas e flavonóides, para as espécies. Segundo os autores, o extrato do nó de *P. banksiana* contém a menor quantidade de lignanas, enquanto o de *P. sitchensis* apresenta teor de lignanas três vezes mais alto. Flavonóides foram observados em maior quantidade em *P. banksiana* e estilbenos não foram observados em *P. sitchensis*. Teores de fenóis foram similares entre as duas espécies. Essa pesquisa demonstrou ainda, que nós de coníferas apresentam propriedades antioxidantes por meio de transferência de elétrons, e que Estilbenos tem efeitos inibitórios diretos sobre o crescimento e oxidação em cultura de células humanas.

Compostos fenólicos oriundos de extratos de nós apresentam propriedades biológicas medicinais importantes, incluindo ação anti-tumoral, anti-oxidante e efeitos cardioprotetores (THOMPSON, 2000; ZERN e FERNANDEZ, 2005). Extratos de nó de madeira de *Pinus banksiana* (Lamb.) e *Pinus sitchensis* (Bong.) exercem efeitos específicos imunológicos, citoprotetores e imunomoduladores em

células intestinais humanas (PIETARINEN *et al.*, 2006), enquanto que os estilbenos presentes em extratos de nós de *P. silvestris* são responsáveis pelos efeitos anti-bacterianos, ação antimicrobiana e as propriedades citotóxicas dessa espécie (LINDBERG *et al.*, 2004). Em estudo com extratos de nós de duas espécies, potenciais efeitos protetores contra-oxidante, indução de lesão celular e danos no DNA foram avaliados (PHELAN *et al.*, 2009). Esses autores demonstraram que nós de coníferas, além de apresentarem propriedades antioxidantes, contêm estilbenos capazes de promover efeitos inibitórios diretos sobre a viabilidade e crescimento de células em cultura e que, extrato de nó de *P. banksiana* apresenta efeito mais toxicológico entre as espécies avaliadas.

O conteúdo de compostos químicos em um nó de madeira pode ser várias centenas de vezes maior que na madeira adjacente, sendo que este conteúdo pode variar significativamente não só entre espécies, como entre nós na mesma árvore (PHELAN *et al.*, 2009). Estudos com mais de 50 espécies de árvores demonstram que os nós podem conter quantidades notavelmente mais elevadas de polifenóis do que a madeira adjacente ao nó, sendo que, para muitas espécies chegam a ser 20-100 vezes mais elevadas (WILLFÖR *et al.*, 2003). Em comparação com a madeira, o tecido do nó apresenta aumento do teor de lignina com o aumento do ângulo de microfibrilas (SHIGO, 1985; BUKSNOWITZ *et al.*, 2010). Desde os anos 1970, um grande número de lignanas também foi identificado, não só em espécies de madeira macia, mas também em espécies de madeira dura (GOTTLIEB e YOSHIDA, 1989). Estilbenos, flavonóides e lignanas são compostos eficazes no aprisionamento de radicais livres e apresentam atividade antioxidante variável dependendo da estrutura do composto (PIETARINEN *et al.*, 2006). Nós de *Pinus radiata* D. Don. e *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze demonstraram potencial para subprodutos a partir de seus extratos (HILLIS e INOUE, 1968; ROBERT e ANDEREGG, 1974).

As Lignanas, que ocorrem de forma livre em nós, podem ser facilmente extraídas com o uso de etanol aquoso ou mesmo com água, podendo ser produzidas em larga escala a partir de nós nas fábricas de celulose e papel (HOLMBOM *et al.*, 2003). Isso acarreta em facilidades para que pesquisas compreendam a sua bioatividade e forneçam bases para aplicações na Medicina, Nutrição, ou como antioxidantes naturais e biocidas (PHELAN *et al.*, 2009). Spruce 7-hidroximatairesinol (HMR), forte antioxidante que possui ação inibidora

para o crescimento de certos tumores, tem produção e comercialização como suplemento dietético nos Estados Unidos (HOLMBOM *et al.*, 2003). Os mesmos autores afirmam que em uma grande fábrica de celulose usando madeira de abeto da Noruega, os nós são separados tornando possível a extração de 100 toneladas de HMR por ano.

Devido a questões de segurança alimentar e de demanda do mercado consumidor, tem havido um interesse considerável na substituição de antioxidantes sintéticos por alternativas naturais (GÜLÇİN *et al.*, 2006). Nesse sentido, o estudo das propriedades bioativas de extratos de nó de madeira pode apontar para novos produtos, o que configura uma área relativamente nova e promissora, com novos extratos de nós, especialmente de coníferas, a ser estudados e explorados, o que justifica investigações futuras (PHELAN *et al.*, 2009). O estudo dos componentes químicos da madeira, em especial os nós apontam não somente para o melhor aproveitamento da madeira. Podem também indicar, sobretudo, novas fontes de utilização, incluindo a comercialização do nó de madeira como produto, com rentabilidade financeira maior do que a proporcionada pela destinação atual, além de fornecer subsídios para avanços nos mais diversos seguimentos de pesquisa, incluindo melhores estratégias de corte em serrarias (TONG *et al.*, 2013).

### 3.2.5 Técnicas para caracterização de lignina

#### 3.2.5.1 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de $^{13}\text{C}$

Dentre os métodos usados para caracterização estrutural elementar da madeira, a espectroscopia de ressonância magnética nuclear do  $^{13}\text{C}$  (RMN  $^{13}\text{C}$ ) é um dos mais reconhecidos (NIMZ *et al.*, 1984; DUARTE *et al.*, 2001). O método pode determinar com precisão as estruturas das sub-unidades monoméricas, os grupos funcionais e o tipo de ligações químicas presentes nas moléculas (BAPTISTA, 2006), permitindo elucidar as estruturas moleculares de várias substâncias que ocorrem na madeira (SOUZA *et al.*, 2011). É um método não destrutivo usado para análise qualitativa e quantitativa (ROBERT, 1992), que apresenta como principais vantagens a preparação muito simples e a facilidade

de obtenção de dados das mais variadas formas e tamanhos (CIENFUEGOS e VAITSMAN, 2000). O uso da RMN  $^{13}\text{C}$  para a verificação estrutural de substâncias da madeira, assim como outras técnicas espectroscópicas avançadas, trouxe avanços significativos para a compreensão estrutural de substâncias encontradas em plantas. A imensa quantidade de absorções que representam todos os carbonos moleculares pode significar uma impressão quase digital de uma determinada madeira e a relação dos deslocamentos químicos dos carbonos, assim como o seu tipo, pode trazer informações que representam um retrato da composição, cujas características refletem a natureza do lenho (SOUZA *et al.*, 2011).

A RMN permite determinar as propriedades de uma substância através da medida da interação de um campo eletromagnético com uma coleção de núcleos na presença de um campo magnético (RODRIGUES, 2010). Na RMN a energia absorvida pelo espectro eletromagnético está relacionada às transições entre níveis de energia rotacionais dos núcleos componentes das substâncias (núcleos ou íons) contidas na amostra. A interação entre os núcleos e o campo magnético não depende apenas do tipo de núcleo, mas, também, do ambiente químico em que se encontra tal núcleo. Como os núcleos em uma molécula são blindados fracamente pelas nuvens eletrônicas que os cercam, cuja densidade varia com o ambiente químico, a vizinhança deste núcleo interfere na frequência de transições do núcleo. Esta variação dá origem à absorção e frequência em posições diferentes no espectro de RMN, justificando a necessidade de análise cuidadosa dos espectros, para se obter informações precisas da dinâmica e estrutura molecular contida na amostra, bem como das interações inter e intramoleculares (RODRIGUES, 2010). Segundo Preto (2007) o decaimento uniforme das intensidades dos núcleos de  $^{13}\text{C}$  evidenciam a rigidez da estrutura molecular do material e Landucci *et al.* (1998), afirmam que a baixa intensidade está relacionada a altos teores de estruturas  $\beta$ -5 e  $\beta$ - $\beta$ .

Os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  das amostras de lignina são complexos, com sinais muitas vezes largos e sobrepostos, tornando-se difícil, em alguns casos, a identificação de um dado carbono ou um grupo de átomos de carbono (BAPTISTA, 2006). Nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  dessa molécula, segundo Nimz *et al.* (1984) é possível identificar quatro zonas principais distintas cujos sinais são atribuídos conforme descrição abaixo:

200 – 165 ppm: grupos carbonílicos e carboxílicos;  
165 – 100 ppm: carbonos aromáticos e olefínicos;  
100 – 50 ppm: carbonos alifáticos ligados a átomos de oxigênio;  
50 – 10 ppm: carbonos dos grupos  $-CH_2$  e  $-CH_3$  das cadeias alifáticas saturadas.

As estruturas fenólicas, que nos espectros de RMN  $^{13}C$  correspondem aos sinais a 147 e 149 ppm, são algumas das mais importantes unidades da lignina a serem estudadas. Frente aos reagentes de cozimento e branqueamento da pasta celulósica são mais reativas do que as estruturas não fenólicas, sendo importante estabelecer a relação entre elas para se pesquisar alterações químicas na macromolécula (BAPTISTA, 2006).

### 3.2.5.2 Espectroscopia no Infravermelho

A espectroscopia no infravermelho fornece evidências da presença de vários grupos funcionais na estrutura orgânica devido à interação das moléculas ou átomos com a radiação eletromagnética em um processo de vibração, onde as ligações químicas apresentam frequências específicas, que vibram a níveis de energias definidos. Essas frequências são determinadas pela forma da molécula, seus níveis de energia e pela massa dos átomos que a constituem (SILVEIRA, 2010). O princípio de medição baseia-se no fato de a radiação infravermelha ser absorvida pelas ligações moleculares, como C-H, O-H, N-H, C=O, C-C, etc. As ligações covalentes que constituem as moléculas orgânicas estão em constantes movimentos axiais e angulares. A radiação no infravermelho faz com que átomos e grupos de átomos de compostos orgânicos vibrem com amplitude aumentada ao redor das ligações covalentes que os ligam. O processo é quantizado e o espectro vibracional aparece como uma série de bandas, onde a mudança de nível de energia vibracional corresponde a uma série de mudanças de níveis de energia vibracional, fazendo com que as linhas se sobreponham dando origem às bandas observadas no espectro que podem ser apresentadas em número de ondas, utilizando a unidade centímetro inverso ( $cm^{-1}$ ) ou em micrômetros ( $\mu m$ ) (SILVEIRA, 2010). A região espectral do infravermelho possui radiação com números de onda num intervalo de 12.800 a  $10\ cm^{-1}$ , dividida em infravermelho

próximo ( $12.800$  a  $4000\text{ cm}^{-1}$ ), infravermelho médio ( $4000$  a  $200\text{ cm}^{-1}$ ) e infravermelho distante ( $200$  a  $10\text{ cm}^{-1}$ ) (CUNHA, 2006).

Ligações moleculares distintas e grupos funcionais presente em polissacarídeos, proteínas, lipídios, aromáticos e outros compostos dão origem a absorbância a os números de onda específicos do espectro (NELSON e COX, 2014). Todos os compostos dentro da amostra formam um espectro específico como uma impressão digital, sendo improvável a possibilidade de dois compostos diferentes terem o mesmo espectro no infravermelho (SILVERSTEIN *et al.*, 1994).

Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), em combinação com análise multivariada, permite a análise da madeira sem longos processos de preparação da amostra e constitui fonte de informação para uma rápida avaliação da composição química das amostras de madeira (CHEN *et al.*, 2010), sendo utilizada desde o início da década de 1950, como ferramenta importante de análise de rotina para estudos químicos de lignina (FAIX, 1992). Para a detecção de interações intermoleculares específicas em polímeros a FTIR é uma ferramenta poderosa para estudo das alterações observadas nos grupos hidroxilas, carbonilas, e éter, fornecendo evidência direta de interações específicas entre os componentes. No entanto, devido à estrutura complexa e a natureza amorfa da lignina, é difícil estudar essas interações e o complexo sistema de ligações de hidrogênio nessa macromolécula é examinado a partir da comparação com compostos modelo (KUBO e KADLA, 2005). A região de interesse no espectro IV de ligninas é compreendida entre  $4000$  e  $700\text{ cm}^{-1}$  (SALIBA *et al.*, 2001) e a caracterização de picos de absorção se faz principalmente de modo qualitativo, por comparação com dados tabelados (TAI *et al.*, 1990; YANG e YING, 2011). Nesta metodologia de interpretação, compostos - modelo são usados como padrões ou para relacionar alguns picos de absorção. Dessa forma, as atribuições dos picos de absorção IV de ligninas são feitas estudando comparativamente os espectros IV de alguns de seus modelos (TAI *et al.*, 1990).

### 3.2.5.3 Testes Histoquímicos

A lignina pode ser localizada e analisada qualitativa e quantitativamente utilizando uma vasta gama de técnicas (DONALDSON, 2001), incluindo testes histoquímicos Wiesner e Mäule (LIN e DENCE, 1992), microscopia de fluorescência (DONALDSON e KNOX, 2012), entre outros. Os reagentes de Wiesner e Maule são os mais utilizados como testes para analisar qualitativamente a lignina, por minimizarem a interferência de compostos fenólicos que possam limitar a precisão dos resultados (DEAN, 1997). Apoiados por métodos químicos mais rigorosos, como a espectroscopia de RMN, a coloração positiva nessas reações podem ser tomada como evidência segura para a presença de lignina nos tecidos vegetais (LEWIS e YAMAMOTO, 1990). Seções cortados à mão são submetidas aos testes Wiesner e Mäule para localizar padrões de deposição de lignina (PATTEN *et al.*, 2005). No teste Wiesner a detecção de lignina na parede celular é feita a partir da reação química de floroglucinol com HCl sob condições ácidas (GEIGER e FUGGERERA, 1979). O reagente é utilizado como um corante (rosa a vermelho) para detectar grupos terminais de p-hidroxicinamaldeído em lignina de tecidos de plantas e embora frequentemente citado como específico para coniferil aldeído, reage com todos os três aldeídos fenolpropanoídicos (PATTEN *et al.*, 2005), podendo ser usado para a detecção específica de unidades finais aldeídicas, que são montadas durante os primeiros estágios de lignificação da parede celular do xilema (POMAR *et al.*, 2002). A coloração com o reagente de Wiesner é estendida além das células de diferenciação do xilema jovens para alcançar a camada de células dos elementos do protoxilema (ROS BARCELÓ *et al.*, 2000). No teste Mäule, tratamentos sequenciais com permanganato de potássio, ácido clorídrico e hidróxido de amônio converte e identifica unidades guaiacílicas e siringílicas evidenciando-as pela coloração marrom nas gimnospermas, ou vermelha na lignina das angiospermas. Usado como um fixador primário para tecidos de planta (MOLLENHAUER, 1959), o permanganato de potássio atua como agente de contraste na determinação da localização da lignina potencializando o estudo da ultra-estrutura de lignina na madeira (BLAND *et al.*, 1971). Ambos os testes permitem apenas visualização temporária de cor, o que limita o tempo para obtenção de imagens após a aplicação dos reagentes em 20 minutos (PATTEN *et al.*, 2007).

A microscopia com fluorescência é utilizada para identificação, localização e quantificação de substâncias com estruturas capazes de emitir fluorescência (KOCH e KLEIST, 2001). Embora a lignina não tenha uma cor característica, as paredes celulares lignificadas são facilmente distinguidas pela sua fluorescência natural (LIU *et al.*, 1994). A lignina apresenta uma ampla gama de emissão de fluorescência tanto com luz ultravioleta como luz visível (DONALDSON e KNOX, 2012). Sua auto fluorescência está associada a estruturas fenilpropanóides, estilbenos e grupos carbonila que formam a macromolécula (DEAN, 1997) e permite o mapeamento da organização desse polímero (PAËS, 2014) sendo um método específico para sua localização (DONALDSON, 2013). É utilizada para investigar a modificação da parede celular ocasionada pela distribuição de lignina em vários tipos de madeira ou durante a formação da madeira (DE MICCO *et al.*, 2012), os efeitos da transformação industrial em madeira e pasta de papel, a fotodegradação de superfícies de madeira (PANDEY, 2005) e pode fornecer informações químicas específicas para detectar a madeira de compressão dimensionando a proporção dessa em relação a madeira normal (DONALDSON *et al.*, 2010).

#### 3.2.5.4 Análise quantitativa da lignina

Na análise quantitativa da lignina o método Klason é considerado padrão para estudo de tecidos lenhosos, sendo usado como método comparativo para avaliação de protocolos de outros métodos de quantificação (DEAN, 1997). Neste método, pela hidrólise ácida, os polissacarídeos são removidos e a lignina é liberada como resíduo (SALIBA *et al.*, 2001).

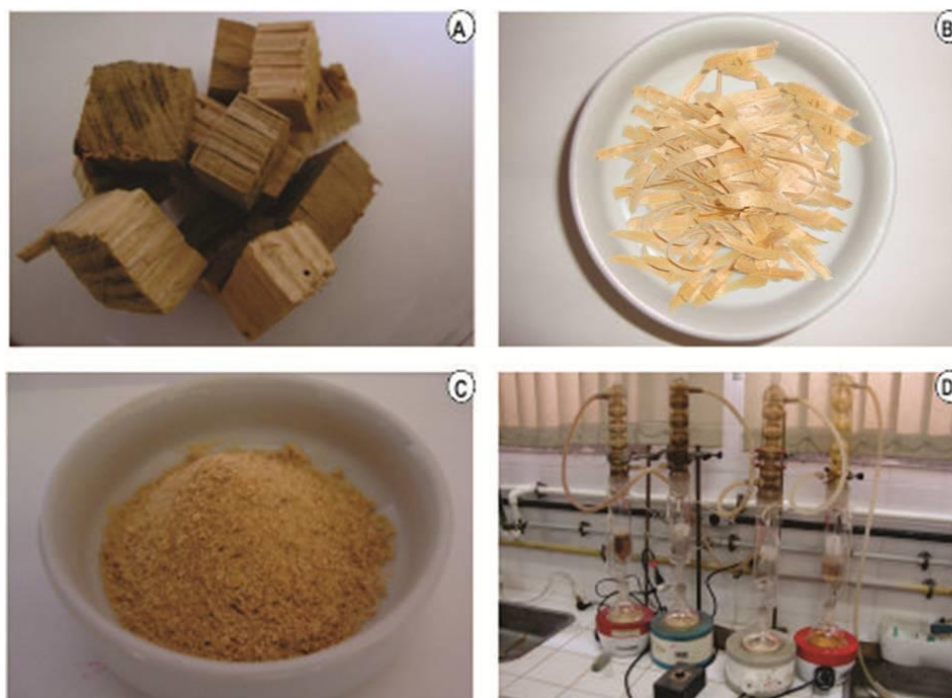


### 3.3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas cinco árvores advindas de plantio comercial localizado a 47°04'39" de longitude oeste e 22°53'20" de latitude sul, na cidade de Agudos – SP. A madeira da espécie foi identificada e tombada sob n<sup>os</sup> de registros 10191, 10192, 10193, 10194, 10195, na Xiloteca do Jardim Botânico do Rio de Janeiro. De cada indivíduo foram retirados três discos contendo ao menos um nó/galho. Amostras das regiões do nó e regiões livres de nó foram retiradas dos discos. Dessas amostras foram obtidos pequenos cavacos de madeira com o auxílio de um facão. Utilizando-se um moinho de facas do tipo Willey 340 (Modelo TE 040), os cavacos foram convertidos em serragem com posterior redução de granulometria em moinho de bolas giratório para obtenção do material para as análises.

No processo de extração do material (Figura 3.1), empregou-se o aparelho tipo Soxhlet, utilizando-se, separadamente, 25 gramas de madeira moída e homogênea das partes do disco com e sem nó. O material foi acondicionado em cartucho confeccionado com papel-filtro e colocado dentro do tubo de extração. Os solventes foram colocados em balão de 500 mL, obedecendo à escala elitrópica na ordem crescente de polaridade (ciclohexano; acetado de etila; metanol). O tempo de extração para cada solvente foi de 24 horas ininterruptas (BROWNING, 1967). Após esse período, o extrato foi concentrado em rotavapor e os concentrados foram transferidos para um recipiente até a completa evaporação do solvente em temperatura ambiente

A caracterização da lignina das amostras de nó foi efetuada através do método degradativo Lignina Klason e métodos espectroscópicos, a Ressonância Magnética Nuclear do <sup>13</sup>C e Infravermelho com Transformada de Fourier. Adicionalmente, para corroborar ou confrontar os resultados obtidos com os testes supracitados, usou-se testes histoquímicos de Wiesner, Mäule e Fluorescência.



**Figura 3.1:** Metodologia de extração de substâncias para estudo da lignina em nós e madeira livre de nós de *P. elliptii* var. *elliptii*. (A) cavacos retirados dos discos, (B) fragmentação dos cavacos, (C) material convertido em serragem, (D) extração.

### 3.3.1 Lignina Klason

A lignina Klason (lignina insolúvel em ácido) foi determinada segundo a descrição de Abreu *et al.* (2006). Aproximadamente 300 mg de material livre de extrativo foi transferido para um tubo de ensaio e adicionado lentamente 3 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  72%. O material foi agitado por 1 hora à temperatura entre 25 e 30°C, transferido para um balão de 250 mL e diluído em uma solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a 15% em adição de 84 mL de água destilada; posteriormente foi deixado em refluxo por 4 horas, permanecendo em repouso a seguir. Após o repouso, o resíduo foi lavado com 500 mL de água destilada quente em um funil de placa sintetizada,

com o auxílio de vácuo. O material retido no filtro foi seco em estufa a 105 °C até manter o peso constante.

$$L_i\% = m_2/m_1 \cdot 100 \text{ em que:}$$

$L_i$  = lignina insolúvel na amostra (%);

$m_1$  = massa de resíduo, peso seco (mg); e

$m_2$  = massa da amostra, peso seco (mg).

### 3.3.2 RMN $^{13}\text{C}$

Análise de Ressonância Magnética Nuclear do Carbono-13(RMN  $^{13}\text{C}$ ) do material livre de extrativos foi realizada junto ao Laboratório de Química, Instituto de Ciências exatas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), em espectrômetro modelo DRX-500 operando a 125 MHz para o núcleo do  $^{13}\text{C}$ . Foram obtidos espectros RMN  $^{13}\text{C}$  das regiões de nós a 25%, 50% e 100% (base, meio e topo, respectivamente) da altura comercial. Para efeito de comparação também foram obtidos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  da madeira livre de nós de regiões às mesmas alturas.

### 3.3.3 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier

Para a espectroscopia de Infravermelho, utilizou-se 1 mg do material seco misturado e triturado com 100 mg de KBr (MORAIS *et al.*, 2005), prensado em forma de pastilha e introduzido no compartimento do espectrômetro, modelo VARIAN 640-IRFT-IR spectrometer. Os espectros foram registrados no modo transmittance.

### 3.3.4 Testes Histoquímicos

Para os testes histoquímicos seções histológicas obtidas com auxílio de Micrótomo Leica SM 2000R no Laboratório de Botânica Estrutural/JBRJ foram clarificadas com hipoclorito de sódio 50%, neutralizadas com solução de ácido

acético 1% e lavadas em água destilada (VAZQUEZ-COOZ e MEYER, 2002), antes da realização dos testes de Mäule, Wiesner e Fluorescência. Fotomicrografias foram obtidas com microscópio Olympus BX 51 acoplado ao computador, provido de sistema de processamento de imagens Cell Imaging Software.

### 3.3.5 Wiesner

Para a detecção de lignina, seções de cada região (base, meio e topo) foram submetidas à solução alcoólica floroglucinol para reação, em baixa temperatura (+/-10°C), com HCl (LIN e DENCE, 1992).

### 3.3.6 Teste de Mäule

Os cortes frescos foram dispostos em solução de  $\text{KMnO}_4$  durante 5 minutos. Em seguida foram lavados com água destilada e submetidos à solução de HCl 3% até a mudança e estabilização da coloração. Foram lavados novamente em água destilada e por fim, submetidos à uma solução de  $\text{NH}_4\text{OH}$ , para confirmação do tipo de lignina (LIN e DENCE, 1992).

### 3.3.7 Fluorescência

Os cortes foram observados ao natural no microscópio óptico (Olympus BX 51), equipado com um sistema digital de análises (Cell<sup>^</sup>F Imaging Software), com filtro de excitação em 470-490 nm, emissão em 515-565 nm e um filtro FITC (U-MWB2).

### 3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.5

##### 3.5.1 Lignina Klason

Os dados percentuais de lignina Klason apresentam distribuição normal ou relativamente normal, com exceção do seguimento “meio” do tronco, tanto na “transição madeira-nó” como no “nó”. Os coeficientes de variação apresentaram baixos percentuais, o que sugere relativa consistência numérica das médias obtidas (29 a 37%) (Tabela 3.1).

**Tabela 3.1:** Percentual de lignina Klason em *P. elliotii* var. *elliotii* considerando as condições de “madeira sem nó”, “transição madeira-nó” e “nó”; e a posição no tronco (base, meio e topo).

Análise descritiva	Madeira		
	Base	Meio	Topo
Média ( $\pm$ desvio padrão)	29,71 ( $\pm 3,02$ )	31,00 ( $\pm 1,56$ )	29,92 ( $\pm 1,99$ )
Mínimo	27,17	29,26	26,71
Máximo	34,75	32,65	31,70
Coeficiente de variação	10,16%	5,03%	6,66%
K-S	0,2465	0,2496	0,2274
Valor de P	> 0,1000	> 0,1000	> 0,1000
Resumo K-S	ns	ns	ns
Assimetria	1,57	0,23	-1,32
Curtose	2,48	-2,76	1,49

Análise descritiva	Transição madeira - nó		
	Base	Meio	Topo
Média ( $\pm$ desvio padrão)	33,95 ( $\pm 2,66$ )	33,68 ( $\pm 1,52$ )	33,20 ( $\pm 0,95$ )
Mínimo	29,78	32,57	32,17
Máximo	36,89	36,31	34,59
Coeficiente de variação	7,84%	4,52%	2,87%
K-S	0,2077	0,3655	0,1791
Valor de P	> 0,1000	0,0277	> 0,1000
Resumo K-S	ns	*	ns
Assimetria	-1,02	1,85	0,61
Curtose	1,50	3,65	-0,17

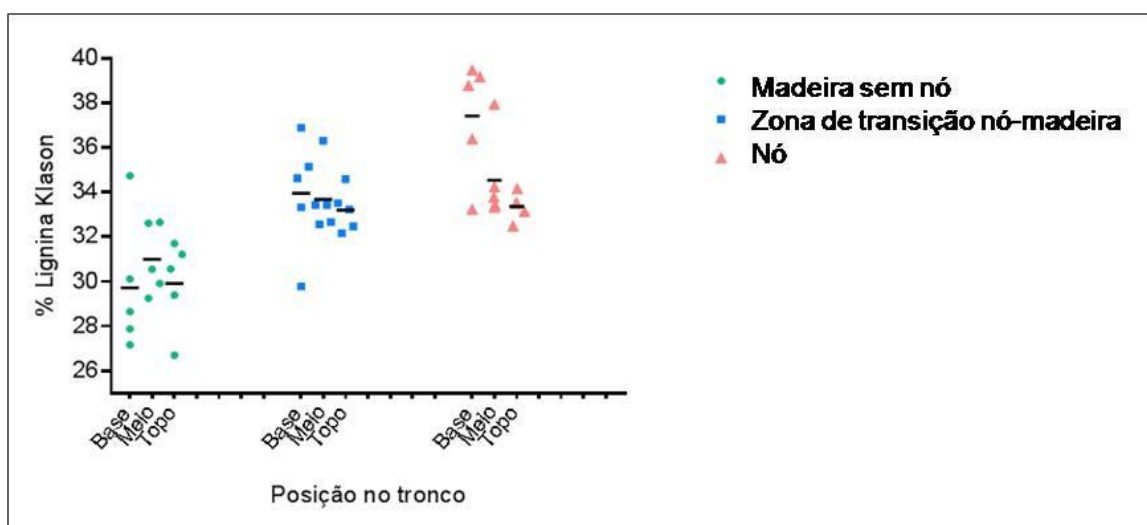
  

Análise descritiva	Nó		
	Base	Meio	Topo
Média ( $\pm$ desvio padrão)	37,41 ( $\pm 2,63$ )	34,55 ( $\pm 1,93$ )	33,37 ( $\pm 0,61$ )
Mínimo	33,24	33,33	32,49
Máximo	39,48	37,94	34,17
Coeficiente de variação	7,03%	5,59%	1,84%
K-S	0,2993	0,3633	0,2033
Valor de P	> 0,1000	0,0297	> 0,1000
Resumo K-S	ns	*	ns
Assimetria	-1,30	2,05	-0,29
Curtose	0,74	4,31	0,87

Para a região de madeira livre de nó, maior percentual médio de lignina Klason, apesar de discreto, foi observado na região do meio do tronco, enquanto que na região de transição madeira-nó, assim como para as amostras advindas exclusivamente do nó, as médias com maiores percentuais foram observadas na base, transição e nó, respectivamente. A Análise de variância bidirecional apontou diferenças significativas entre os percentuais de lignina Klason nas condições de “madeira sem nó” “transição madeira-nó” e “nó”, com 49% da variação dos dados justificada por essa condição (Tabela 3.2). Considerando o fator posição (base, meio e topo) do tronco, o teste mostra uma tendência de similaridade entre os percentuais de lignina; demandando análises posteriores mais amplas, visto que menos de 5% da variação dos dados pode ser explicada pela posição. A interação entre os dois fatores (condição e posição) foi responsável por cerca de 8% da variação total dos dados. Uma vez que o total dos percentuais associados aos fatores analisados atingiu cerca de 62%, é provável que outros fatores, além das condições e posições analisadas, também influenciem na variação dos percentuais de lignina Klason nessa espécie (Tabela 3.2 e Figura 3.2).

**Tabela 3.2:** Análise de variância bidirecional dos percentuais de lignina Klason de *P. elliotii* var. *elliotii* considerando as condições de “madeira sem nó”, “transição madeira-nó” e “nó”; e a posição no tronco (base, meio e topo).

ANOVA bidirecional	Alfa = 0,05				
Fonte de variação	% variação total	Valor de P	Sumário P	Significância	
Interação	8,2	0,1261	ns	Não	
Fator "posição no tronco"	4,6	0,1279	ns	Não	
Fator "nó ou madeira sem nó"	49,0	< 0,0001	****	Sim	
	61,8				
Tabela ANOVA	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	Valor P
Interação	31,64	4	7,91	F (4, 36) = 1,932	P = 0,1261
Fator "posição no tronco"	17,83	2	8,92	F (2, 36) = 2,178	P = 0,1279
Fator "nó ou madeira sem nó"	189,10	2	94,55	F (2, 36) = 23,100	P < 0,0001
Resíduo	147,40	36	4,09		



**Figura 3.2:** Percentual de lignina Klason de *P. elliotii* var. *elliotii*, considerando as condições de “madeira sem nó”, “transição madeira-nó” e “nó”; e a posição no tronco (base, meio e topo). Traços em preto representam as médias em cada situação.

Na literatura, o teor de lignina relatado para madeiras de coníferas varia de 25 a 35% (CARVALHO *et al.*, 2009; SANSÍGOLO e BARREIROS, 1998). Analisando isoladamente os percentuais encontrados, tanto para a madeira livre de nó, como para a madeira de transição, os valores, em praticamente todos os indivíduos, correspondem à faixa esperada para madeira de coníferas. Balloni (2009) encontrou valores de 28% de lignina insolúvel para a mesma espécie. Já na madeira de nó, os valores máximos de percentual de lignina Klason chegam a representar 39% e 37%. Willför *et al.* (2003), em estudos com amostras de 30 nós de abeto da Noruega, encontraram variações entre 6 e 24% nos teores de ligninas.

No presente estudo, considerando a orientação radial, as amostras foram retiradas horizontalmente mais externamente. Willför *et al.* (2003), afirmam haver um gradiente de concentrações de ligninas nos nós, ocorrendo maior percentual nas porções de nó inseridas dentro do tronco, diminuindo progressivamente para um nível inferior a 1% a medida que o nó é projetado de 10 a 20 cm para fora do tronco. O que sugere que, para o nó de *P. elliotii*, o valor de percentual de lignina Klason encontrado na região do nó, poderia ser ainda maior. Comparado à *Araucaria angustifolia* e ao *Pinus silvestre* os valores de porcentagem de lignina para nós de *P. elliotii* var. *elliotii* mostraram-se inferiores, mas confirmam o

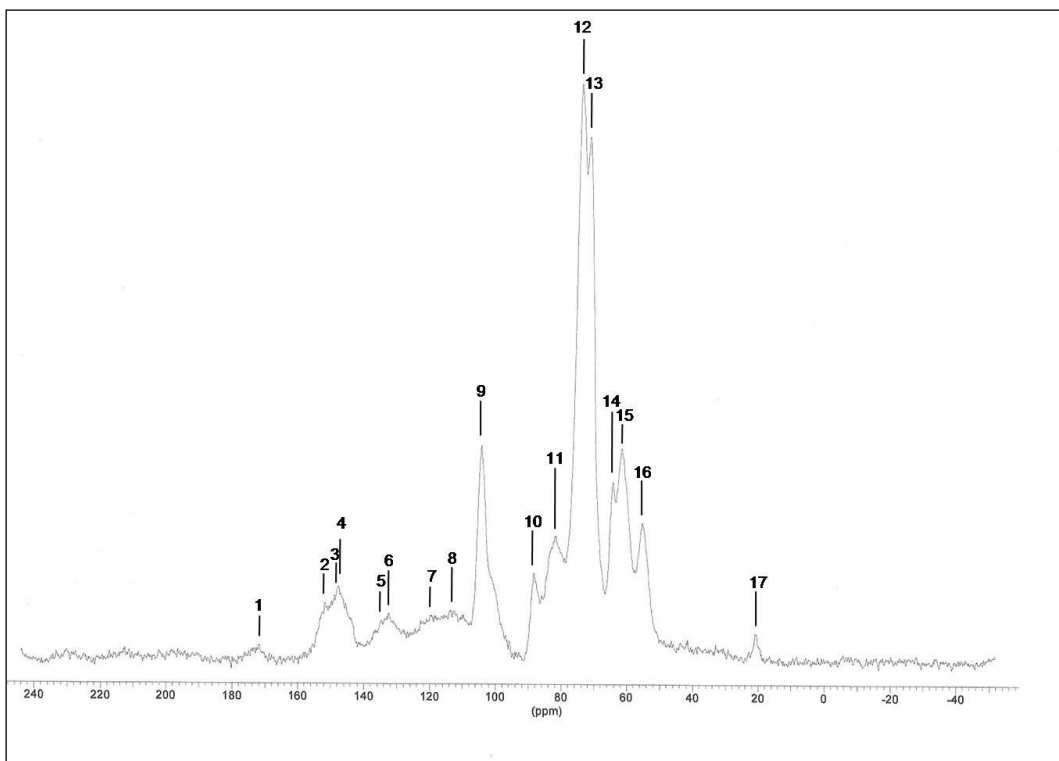
aumento percentual de ligninas no nó (HILLIS e INOUE, 1968; ANDEREGG e ROWE, 1974), em relação ao tecido adjacente ao nó e ao tecido de madeira livre de nós. Segundo os autores, em *Araucaria angustifolia* o percentual da lignina dos nós chega a ser 20% maior que na madeira adjacente ao nó. Willför *et al.* (2003) constataram que madeiras com nós de *Pinus silvestris*, espécie predominante na Europa, contém de 0,4 a 2,9% mais ligninas que a madeira adjacente ao nó. Phelan *et al.* (2009) afirmaram que o conteúdo de substâncias fenólicas varia significativamente não só entre espécies, como entre nós numa mesma árvore. A escassa literatura sobre estudos que justifiquem a variação de teores de lignina exclusivamente nos nós, limita a comparação dos resultados obtidos nesse trabalho com a variação de lignina observada em madeira de compressão.

A similaridade de concentração de lignina encontrada em *P. elliottii* para as três regiões (base, meio e topo), pode ser justificada pelo reduzido número de indivíduos amostrados (cinco), uma vez que para a série constituída pelo conjunto das médias amostrais convergirem para a média da população, o tamanho das amostras (n), deve ser significativamente grande (Teorema Central do Limite) (GOTELLI e ELLISON; RODRIGUES, 2011). Willför *et al.* (2003 a) estudaram mais de 30 nós provenientes de sete árvores de abeto da Noruega para demonstrar um percentual de 6 a 24% maior de ligninas, enquanto Holmbol *et al.* (2003), estudou mais de 50 indivíduos para demonstrar que os nós podem conter quantidades mais elevadas de polifenóis do que a madeira adjacente ao nó; com essas quantidades podendo chegar até 100 vezes mais, para algumas espécies. Phelan *et al.*, (2009) avaliando extratos de nós de *Pinus sitchensis* (Bong.) Carrière e *P. banksiana* Lamb., verificaram não haver similaridade para os valores de lignina entre as espécies, com o extrato do nó de *P. sitchensis* apresentando teor de três vezes maior. Os autores não avaliaram a variação do conteúdo de lignina dos nós ao longo do tronco.

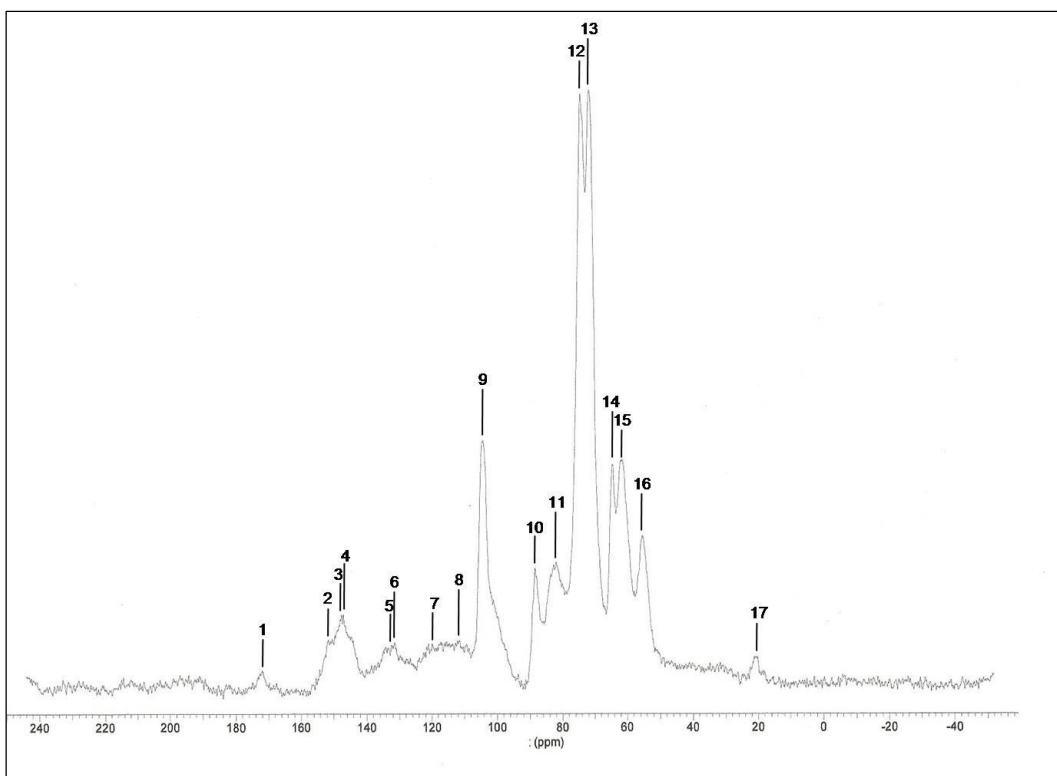


### 3.5.2 RMN de $^{13}\text{C}$ CP/MAS (Polarização Cruzada e Ângulo Mágico de Spin)

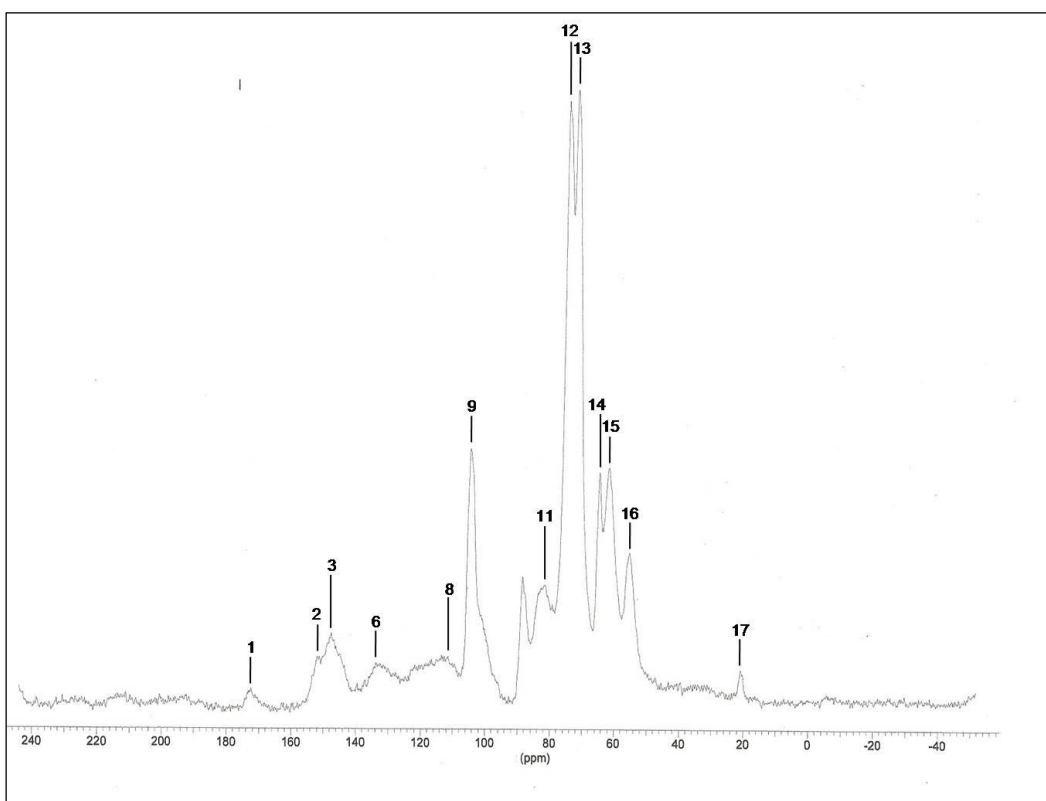
Os espectros resultantes da ressonância magnética de  $^{13}\text{C}$  das madeiras das regiões “nó-base”, “nó-meio”, e “nó-topo” apresentaram alta similaridade entre si. Os espectros das regiões de “nó” são ilustrados nas Figuras 3.3, 3.4 e 3.5 e os deslocamentos químicos representados pelos picos são detalhados na Tabela 3.3.



**Figura 3.3:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  CP/MAS da madeira sem extrativos, proveniente de nó da região da base (25% altura do fuste).



**Figura 3.4:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  da madeira sem extrativos, proveniente de nó da região de meio (50% altura do fuste).



**Figura 3.5:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  da madeira sem extrativos, proveniente de nó da região de topo (100% altura comercial).

**Tabela 3.3:** Deslocamentos químicos (ppm) de átomos de carbono no espectro RMN do  $^{13}\text{C}$  de nós de *P. elliotii* var. *elliotii*.

Sinal	Deslocamento Químico (ppm) nos nós			Atribuições (adaptado de Baptista, 2006; Souza <i>et al.</i> , 2011).
	Base	Meio	Topo	
1	171,71	171,7	171,6	Carboxila do éster de hemicelulose
2	149,8	149,7	149,8	C <sub>3</sub> da lignina guaiacólica
3	147,74	147,74	147,6	C <sub>1</sub> e C <sub>4</sub> de lignina guaiacólica
4	146,4	146,4	-	C <sub>4</sub> de lignina guaiacólica
5	133,1	133,0	-	C <sub>1</sub> da lignina guaiacólica
6	132,57	132,56	132,57	C <sub>2</sub> da lignina guaiacólica
7	119,2	119,2	-	C <sub>6</sub> da lignina guaiacólica
8	113,57	113,53	113,57	C <sub>5</sub> e C <sub>6</sub> da lignina guaiacólica
9	104,47	104,46	104,47	-OCβH <sub>2</sub> da celulose e hemicelulose
10	88,51	88,49	88,50	C <sub>4</sub> da celulose cristalina
11	81,8	81,8	81,9	C <sub>4</sub> da celulose não cristalina e hemicelulose e -OCβH <sub>2</sub> da lignina
12	74,29	74,3	74,28	C <sub>2</sub> , C <sub>3</sub> e C <sub>5</sub> de celulose e hemicelulose
13	71,76	71,7	71,8	C <sub>2</sub> , C <sub>3</sub> e C <sub>5</sub> da celulose e Cα H <sub>2</sub> da lignina
14	64,46	64,46	64,39	C <sub>6</sub> da celulose cristalina
15	61,79	61,79	61,77	C <sub>6</sub> da celulose não cristalina; C <sub>6</sub> da hemicelulose; -OCγH <sub>2</sub> da lignina
16	55,44	55,44	55,43	Metoxila da lignina
17	20,91	20,92	20-38	-CH <sub>3</sub> e -CH <sub>2</sub> em cadeias alifáticas saturadas

A comparação dos valores obtidos com aqueles descritos na literatura (SOUZA *et al.*, 2011; LANDUCCI *et al.*, 1998) mostraram que sinais nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  de *P. elliotii* var. *elliotii* podem ser divididos em três tipos principais: grupos acetílicos (168-171 ppm); carbonos aromáticos, que podem ser divididos em quaternário (125-160 ppm) e átomos de carbono metilênicos (110 - 125 ppm); e sinais de átomos de carbono da cadeia lateral (50-90 ppm).

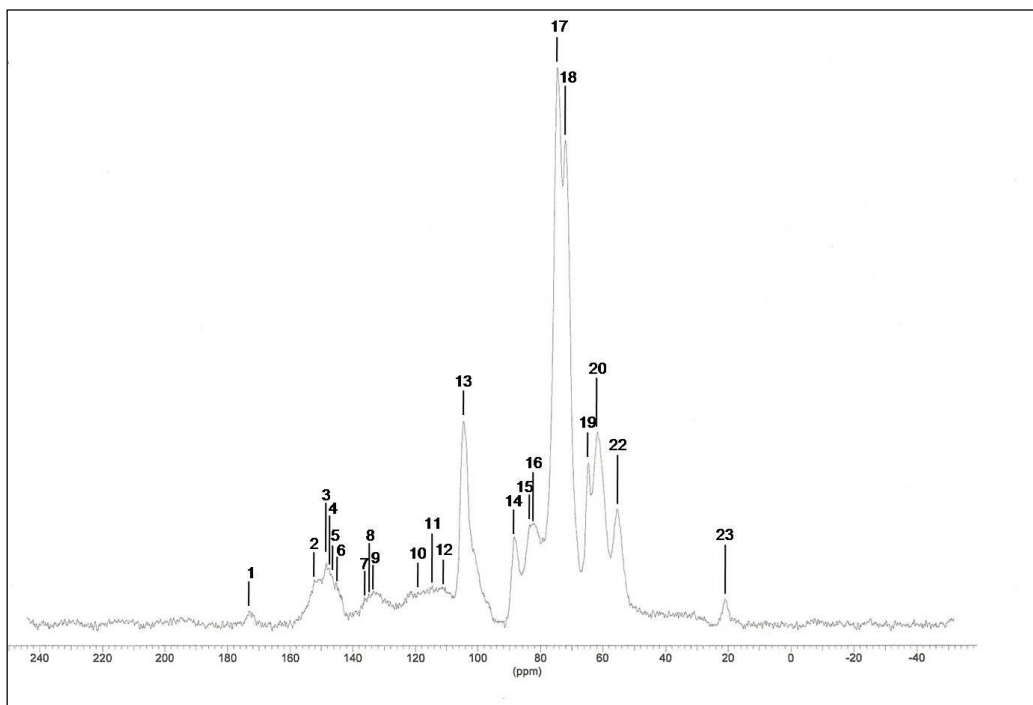
Apesar da similaridade dos sinais de espectro de  $^{13}\text{C}$  para as três regiões, diferenças de intensidade na absorção relativa a cada sinal foram observadas, quando comparado os sinais obtidos a partir da região nó-base com os sinais de carbonos das regiões nó-meio e nó-topo. Muito embora as absorções possam revelar erros devido às contribuições do núcleo de  $^1\text{H}$  são minimizadas em sua amplitude em decorrência da combinação das radiações entre os núcleos de  $^{13}\text{C}$  e de  $^1\text{H}$ . Dessa forma, foram estimados os índices de cristalinidade das celuloses de diferentes regiões da madeira de pinus. Essa estimativa foi baseada na divisão das áreas dos sinais de  $\text{C}_4$  de celulose cristalina e não cristalina entre 80-93 ppm. A determinação foi calculada pela divisão da área do sinal de  $\text{C}_4$  da celulose cristalina (87-90 ppm) pela soma dos sinais de  $\text{C}_4$  entre (80-93 ppm) (PARK *et al.*, 2010).

Sinais característicos dos carbonos  $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_5$  da celulose e hemicelulose (sinal 12 - Tabela 3.3) com mesma intensidade foram obtidos a partir de amostras de nós de base, meio e topo. Sinais característicos do  $\text{C}\alpha$  em unidades  $\beta\text{-O-4 G}$  (ligninas guaiacílicas) foram similares entre os espectros obtidos a partir de madeira do nó de meio e topo (sinal 13 - Tabela 3.3; Figuras 3.4 e 3.5); mas diferentes dos sinais observados nos espectros obtidos a partir da madeira de nó-base (Figura 3.3). Esses sinais ( $\text{C}\alpha$  em unidades  $\beta\text{-O-4 G}$ ) foram similares aos sinais obtidos a partir da madeira livre de nó das três regiões analisadas (base, meio, topo). Os sinais de  $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_5$  da celulose e  $\text{C}\alpha\text{H}_2$  da lignina, apresentaram maior intensidade em amostras de meio e topo comparados as amostras da base. Sinais de  $\text{C}_6$ , característico da celulose cristalina foram observados em todos os espectros das regiões de nó (sinal 19 – Tabela 3.3), mas menor intensidade e maior largura desse sinal foram observadas nos espectros da região de nó-base (Figura 3.3).

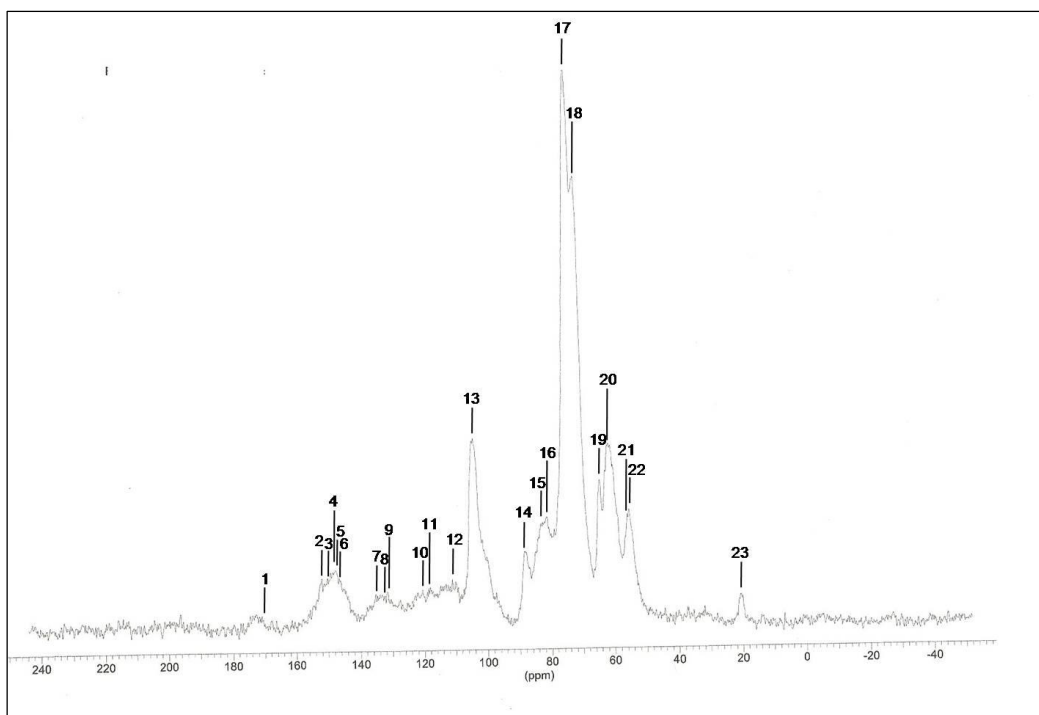
Nos espectros das regiões de madeira livre de nó os sinais característicos da celulose cristalina também apresentaram intensidade inferior aos sinais obtidos a partir das regiões de nó-meio e nó-topo. Os espectros das regiões de “madeira livre de nó” são ilustrados nas Figuras 3.6, 3.7 e 3.8 e os deslocamentos químicos detalhados na Tabela 3.4. Os sinais de  $\text{C}_4$  da celulose cristalina (sinal 14 - Tabela 3.4) foram observados discretamente mais largos nos espectros das regiões livres de nós. Entre os espectros das regiões de nó, mais uma vez, menor intensidade e maior largura do sinal foram apresentadas pelos espectros da região de nó-base.

De modo geral, a região nó-base (Figura 3.3) apresentou espectros com similaridade em intensidade de sinais com as três regiões da madeira livre de nós (Figuras 3.6, 3.7 e 3.8); enquanto que a madeira de nó da região do meio e topo do tronco apresentaram similaridade de intensidade de sinal entre si, mas diferenças entre estes sinais, com os sinais obtidos da madeira de nó da base e das regiões livres de nó.

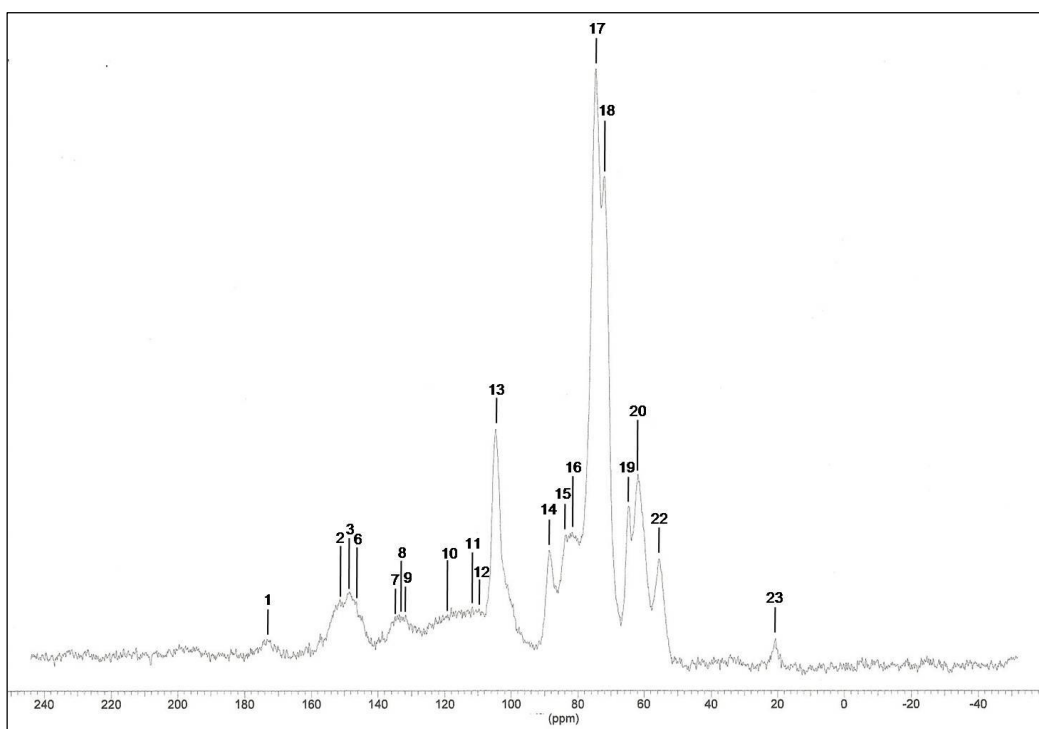
Além da variação da intensidade de sinais observada entre os espectros obtidos, maior quantidade de sinais característicos dos carbonos em unidades guaiacílicas foi observada nos espectros das regiões de madeira livre de nós (sinais 2 a 12 e sinal 15 – Tabela 3.4).



**Figura 3.6:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  da madeira livre de nó da região da base (25% altura do fuste).



**Figura 3.7:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  da madeira livre de nó da região de meio (50% altura do fuste).



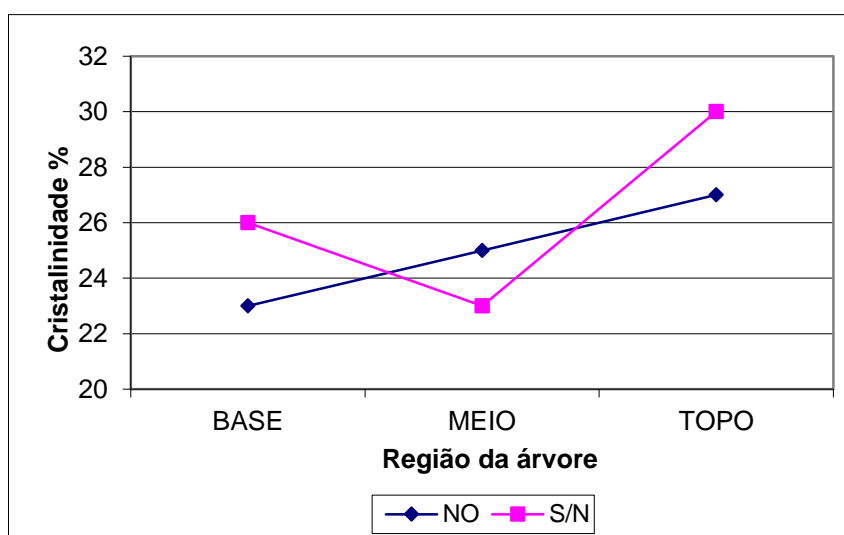
**Figura 3.8:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  da madeira livre de nó da região de topo (100% altura do fuste).

**Tabela 3.4:** Atribuições dos deslocamentos químicos (ppm) de átomos de carbono no espectro RMN do  $^{13}\text{C}$  de amostras de madeira livre de nós de *P. elliotii*, var. *elliotii*.

Sinal	Deslocamento Químico			Atribuições (adaptado de Baptista, 2006; Souza <i>et al.</i> 2011)
	(ppm)			
	(madeira livre de nós)			
	Base	Meio	Topo	
1	171,9	171,6	171,7	Carboxila do éster de hemicelulose
2	149,7	149,7	149,8	C <sub>3</sub> da lignina guaiacólica
3	149,4	149,7	149,4	C <sub>3</sub> de lignina guaiacólica
4	147,72	147,6	-	C <sub>1</sub> e C <sub>4</sub> de lignina guaiacólica
5	146,4	146,4	-	C <sub>4</sub> da lignina guaiacólica
6	146,4	146,3	146,3	C <sub>4</sub> de lignina guaiacólica
7	135,1	135,3	135,0	C <sub>1</sub> em lignina guaiacólica
8	133,1	133,0	133,0	C <sub>1</sub> em lignina guaiacólica
9	132,55	132,5	132,49	C <sub>2</sub> da lignina guaiacólica
10	119,15	119,2	119,2	C <sub>6</sub> da lignina guaiacólica
11	113,57	113,57	113,5	C <sub>5</sub> e C <sub>6</sub> da lignina guaiacólica
12	111,8	111,9	111,9	C <sub>2</sub> de lignina guaiacólica
13	104,47	104,39	104,47	-OCβH <sub>2</sub> da lignina
14	88,5	88,51	88,50	C <sub>4</sub> da celulose cristalina
15	84,1	84,0	84,0	C <sub>β</sub> em unidade guaiacólica
16	81,83	81,83	81,9	C <sub>4</sub> da celulose não cristalina e hemicelulose e -OCβ H <sub>2</sub> da lignina
17	74,29	74,29	74,31	C <sub>2</sub> , C <sub>3</sub> e C <sub>5</sub> de celulose e hemicelulose
18	71,74	71,76	71,7	C <sub>2</sub> , C <sub>3</sub> e C <sub>5</sub> da celulose e Cα H <sub>2</sub> da lignina
19	64,46	64,46	64,39	C <sub>6</sub> da celulose cristalina
20	61,79	61,79	61,73	C <sub>6</sub> da celulose não cristalina; C <sub>6</sub> da hemicelulose; -OCγH <sub>2</sub> da lignina
21	-	55,8	-	O-CH <sub>3</sub>
22	55,44	55,44	55,41	Metoxila da lignina
23	20-38	20-38	20-38	-CH <sub>3</sub> e -CH <sub>2</sub> em cadeias alifáticas saturadas

A cristalinidade da celulose foi avaliada e foram observadas diferenças no comportamento da molécula entre as três regiões (base, meio e topo) (Figura 3.9). Enquanto o percentual de lignina Klason não apresentou diferenças quando comparadas no sentido longitudinal, o percentual de cristalinidade da celulose apresentou significativa variação. Na região de nó houve variação linear crescente da cristalinidade de celulose; com a madeira de nó da base apresentando menores percentuais (23%) seguida da madeira de nó do meio (27%) e a madeira de nó do topo apresentando o maior percentual de cristalinidade da molécula (29%). A região da madeira livre de nó, estudada para efeito de comparação, apresentou a madeira do meio com menor percentual de cristalinidade (23%), seguida da base (26%). Assim como para região de nó, o topo apresentou maior cristalinidade da celulose (30%).

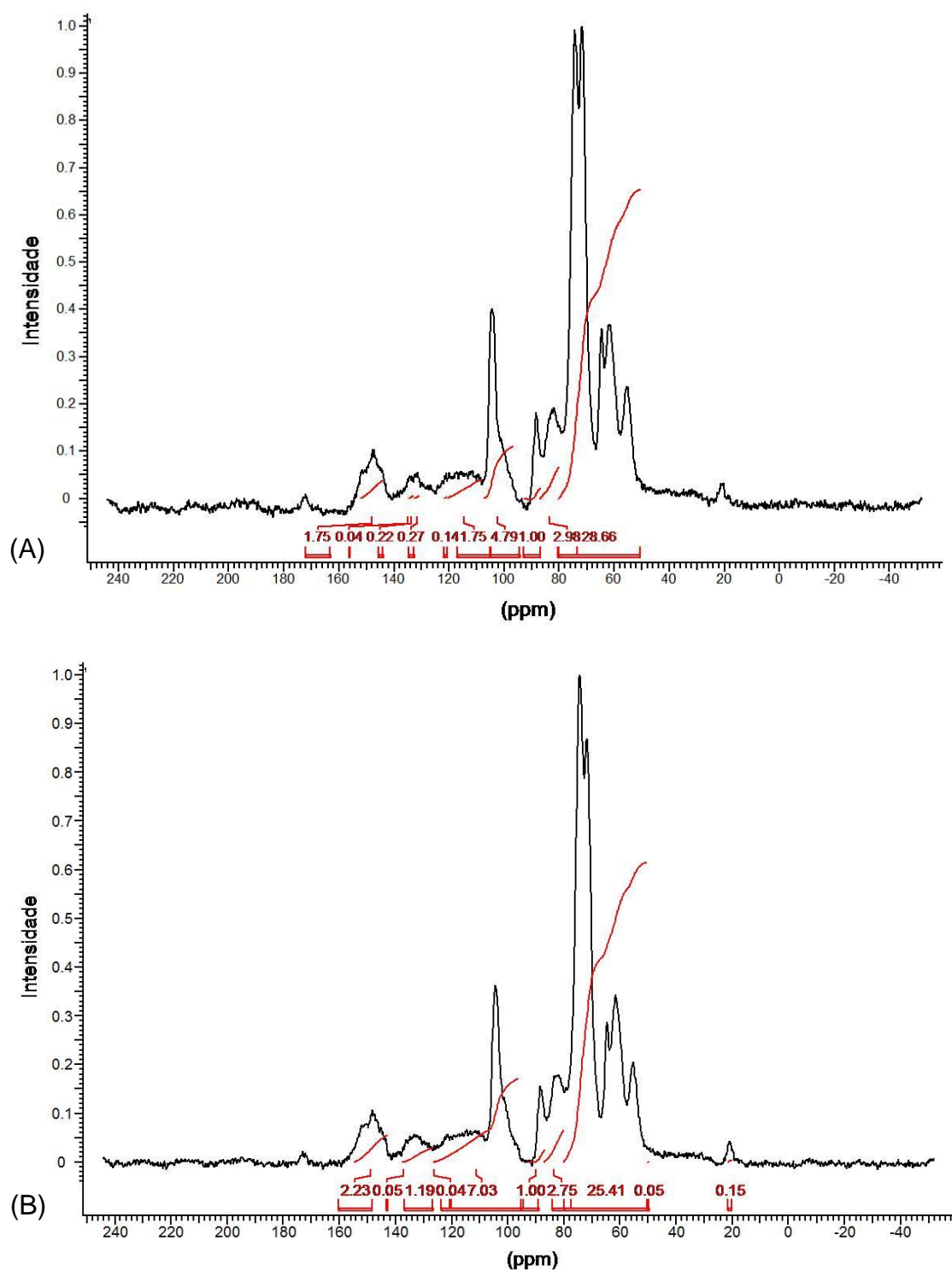
Comparadas isoladamente as condições “nó-base” e “não-nó-base”, o percentual de cristalinidade da celulose é maior em “não-nó-base”. A comparação isolada entre “nó-meio” e “não-nó-meio” revela inversão de valores, com região “nó-meio” apresentando maior cristalinidade da molécula. Na avaliação das regiões de topo, a condição “não-nó-topo” apresenta o maior percentual para cristalinidade da molécula de celulose. Comparadas entre si, é possível identificar o mesmo percentual de cristalinidade da celulose entre a condição “nó-base” e “não-nó-meio”.



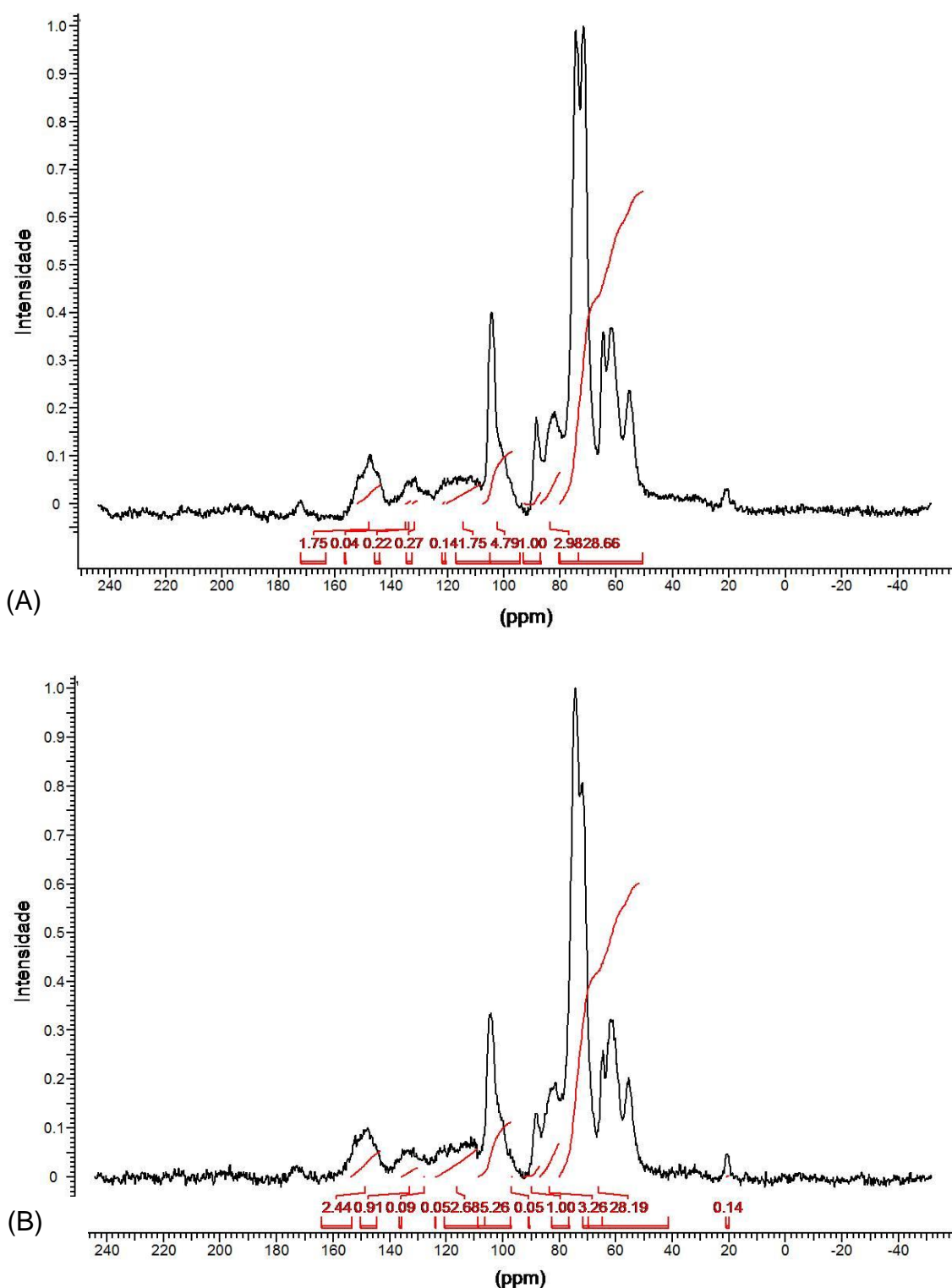
**Figura 3.9:** Percentual de cristalinidade da celulose, ao longo do tronco de *P. elliotii*. var. *elliotii*. S/N = sem nó.



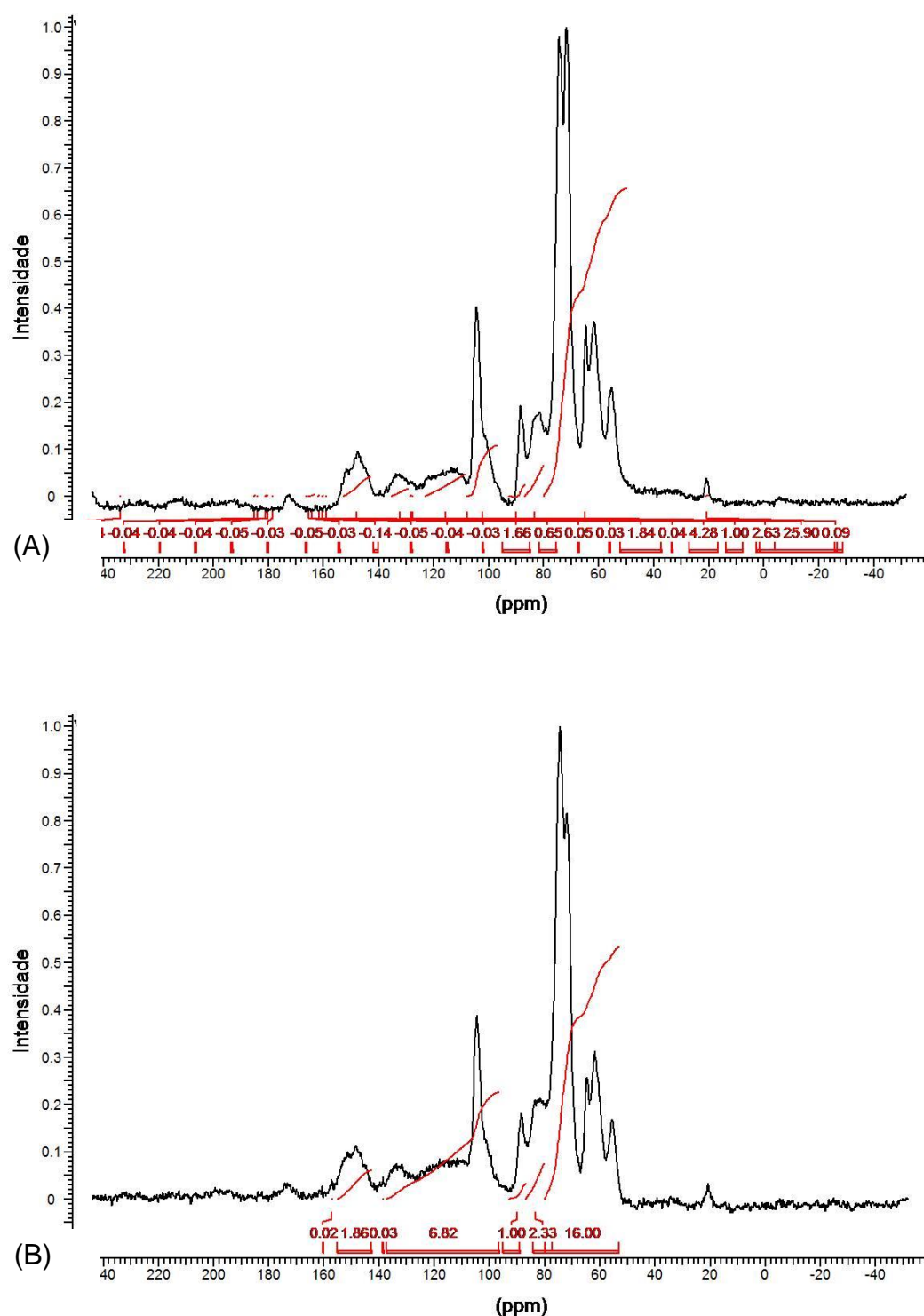
As figuras 3.10, 3.11 e 3.12 mostram a tendência da variação da cristalinidade da celulose nas regiões madeira nó e madeira livre de nós (A e B, respectivamente) estimado por RMN  $^{13}\text{C}$  nas diferentes alturas comerciais.



**Figura 3.10:** Espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  CP/MAS da madeira livre de extrativos integralizado na região entre (80-97 ppm) proveniente de nó (A) e normal (B) da região da base (25% altura do fuste).



**Figura 3.11:** Espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  CP/MAS da madeira livre de extrativos integralizado na região entre (80-97 ppm) proveniente de nó (A) e normal (B) da região meio do tronco (50% altura comercial).



**Figura 3.12:** Espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  CP/MAS da madeira livre de extrativos integralizado na região entre (80-97 ppm) proveniente de nó (a) e normal (b) da região de topo (100% altura comercial).

Na análise dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  CP/MAS a similaridade de sinais encontrada entre as amostras de nó e madeira livre de nó e a comparação dos resultados com valores encontrados na literatura, sugere a mesma composição química entre as regiões. Isso pressupõe que em todas as amostras o processo fisiológico manteve quantitativamente a mesma relação (SOUZA *et al.*, 2011). Sinais alargados, que indicam alta heterogeneidade e estrutura química alterada (FROASS, *et al.*, 1996), foram observados de forma discreta nos espectros de madeira livre de nó. A comparação dos dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  com valores descritos na literatura (LAGO e ROQUE, 2009), sugerem que a menor quantidade de sinais de lignina guaiacólica, observados nos espectros de amostras de nós está relacionada à interferência de outras substâncias, onde os grupamentos funcionais são obscurecidos pela complexidade dos polímeros naturais. Ligninas isoladas na maioria das resinosas são ligninas guaiacólicas essencialmente puras (OBST e LANDUCCI, 1986); mas a difícil remoção de vestígios de carboidratos e componentes estranhos, principalmente se eles estão ligados de forma covalente ao polímero de lignina, interfere na visualização do sinal correspondente (LANDUCCI *et al.*, 1998). A heterogeneidade nas intensidades dos sinais, especialmente para os sinais característicos da celulose, hemicelulose e da cristalinidade da molécula de celulose, apesar de sutis, também indica a interferência de outros elementos químicos.

Comparando-se os gráficos do percentual de lignina Klason com o gráfico de percentual da cristalinidade da celulose é possível inferir a existência de correlação entre o teor de lignina e a cristalinidade da molécula de celulose. Donaldson e Knox (2012) afirmam existir correlações consistentes entre componentes da hemicelulose (polissacarídeos contendo galactose, manose, e xilose) e a lignificação da parede celular; e apesar de menos de 5% da variação dos dados do percentual de lignina para as regiões base, meio e topo de *P. elliotti* var. *elliotti* ter sido explicada pela variável posição no tronco, os valores isolados para esses percentuais permitem sugerir uma variação crescente ao longo do tronco. A falta de similaridade apresentada para os percentuais de lignina observada entre a região do nó e a região próxima corrobora a tese de existência de padrões diferenciados no processo de formação, diferenciação e maturação das células de madeira de nó. A variação da cristalinidade da celulose apresentou percentual crescente à medida que se aumentou a altura do tronco. Essa variação

pode ser atribuída à influência dos fatores hormonais. Quanto mais próximo do ápice, maior a influência do AIA (auxina) sobre a formação de elementos traqueais. Mais as células estarão em processo de divisão celular e menores os incrementos em deposição de lignina ou componentes químicos secundários (ALONI, 2013).

Para a formação da célula, várias cadeias de celulose se unem por ligação de hidrogênio para formar as microfibrilas, que podem se associar a outras macromoléculas por meio de seus grupamentos  $-OH$ . No início da formação da microfibrila, a celulose apresenta-se de forma cristalina. À medida que a microfibrila fica maior, com a deposição de mais cadeias de celulose, ela começa a sofrer interferência de defeitos localizados, contribuindo para a formação da região amorfa da celulose (OLIVEIRA, 2009). Uma vez que as células da região de topo dos nós se encontram em maior processo de divisão, as cadeias de celulose responsáveis pela formação das microfibrilas, não se associaram a outras macromoléculas, permanecendo majoritariamente cristalina. O fluxo polar decrescente de auxina, a partir do ápice caulinar, induz a diferenciação dos elementos traqueais, promovendo mais divisões celulares e um incremento no diâmetro dos elementos (ALONI, 1987; ALONI e PETERSON, 1997; EVERT, 2013), mas este gradiente também é responsável pelo decréscimo na densidade dos elementos, na direção das folhas para a raiz (ALONI e ZMMERMANN, 1983). Por estarem mais próximos às zonas fisiologicamente mais ativas de produção de AIA (folhas jovens), os pontos de intercessão galho/tronco (nós) estão mais suscetíveis à ação desse hormônio.

A diferença de comportamento da cristalinidade observada na região de madeira livre de nó, onde a região da madeira da base apresentou maior cristalinidade que a madeira do meio do tronco, pode ser explicada pela heterogeneidade de crescimento e espessamento dos elementos anatômicos descritos na literatura e também pela ação hormonal.

### 3.5.3 Espectroscopia no Infravermelho

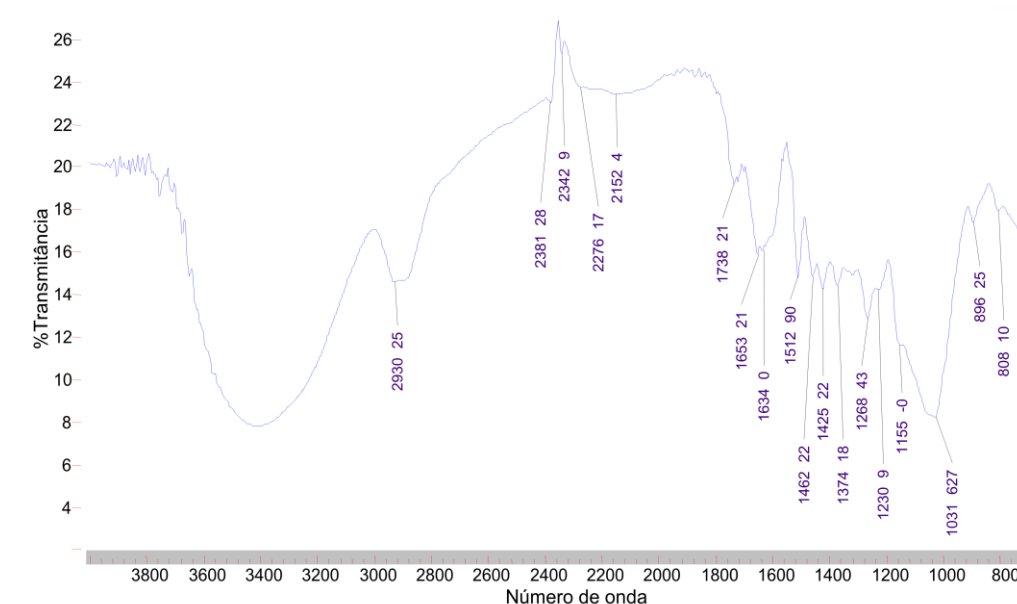
Os espectros de FT-IR provenientes das amostras de nós e madeira livre de nós obtidos na região de  $4000 - 800 \text{ cm}^{-1}$  e suas respectivas

atribuições são visualizados na Tabela 3.5 e ratificam os resultados obtidos a partir dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  das amostras retiradas ao longo do tronco dos indivíduos de *P. elliotii* var. *elliotii*, evidenciando a adequação do método utilizado na extração e purificação da lignina da madeira da espécie estudada.

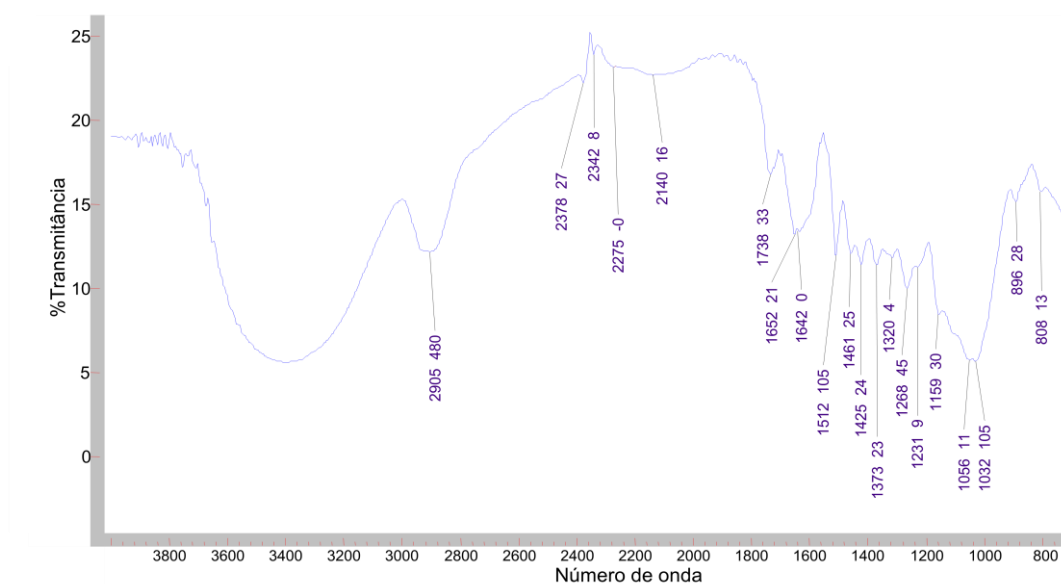
**Tabela 3.5:** Sinais de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier provenientes das amostras de nós e madeira livre de nós (adaptado de Abreu, 1997).

Intervalo ( $\text{cm}^{-1}$ )	Atribuições	Sinais					
		Madeira livre de nó			Nó		
		Base	Meio	Topo	Base	Meio	Topo
3412-3460	Estiramento de O-H						
2842-3000	Estiramento de C-H dos grupos metílicos e metilênicos	2929	2923	2923	2930	2905	2903
1709-1738	Estiramento de C=O em cetona não conjugadas, de grupo éster (freqüentemente de carboidrato) e grupos ácidos carboxílicos		1738	1738	1738	1738	1738
1505-1515	Vibração do esqueleto aromático	1513	1513	1512	1512	1512	1513
1460-1470	Deformação assimétrica em -CH <sub>3</sub> e -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	1462	1462	1462	1462	1461	
1422-1430	Vibração do esqueleto aromático combinado com deformação no plano de C-H influenciado pela substituição do anel	1425	1425	1425	1425	1425	1425
1266-1270	Respiração (breathing) do anel guaiacílico com estiramento C=O	1268	1268	1268	1268	1268	1268
1221-1230	Estiramento de C=O, -C com estiramento de C=O sensível à substituição do anel aromático G				1230		
1086-1125	Deformação de C-O de álcool secundário e de éter alifático						1159
1030-1095	Deformação (no plano) de C-H do anel guaiacílico mais deformação de C-O em álcool primário e em éter com contribuição de estiramento de C=O não conjugado	1057	1057	1057	1031	1056/ 1032	1056

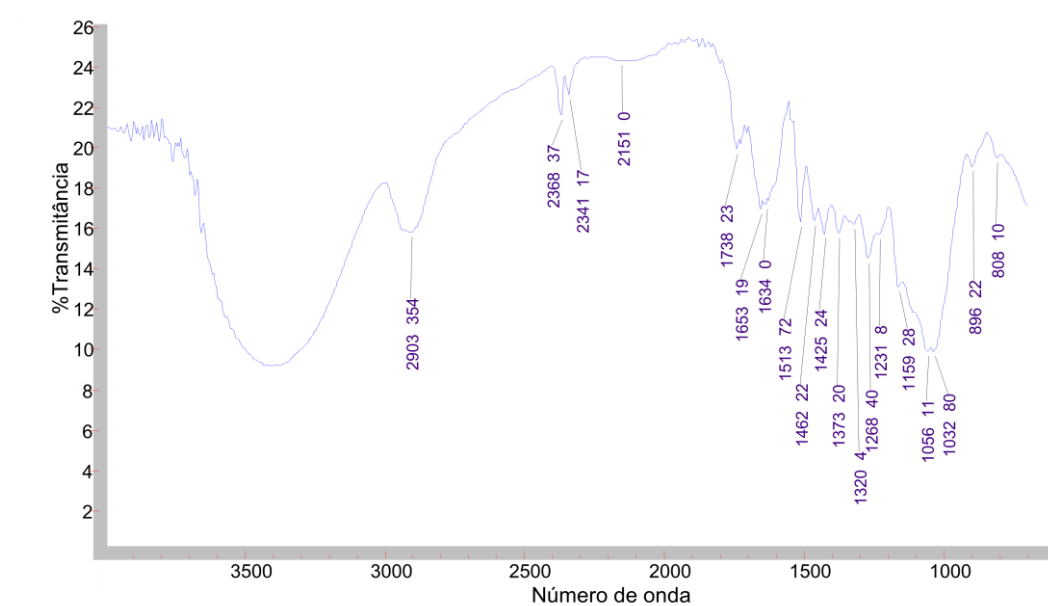
Sinais na região em  $1200\text{-}800\text{ cm}^{-1}$ , que é dominada por vibrações de estiramento de C-O, C-C, estruturas de anel e vibrações de deformação de grupos  $\text{CH}_2$  (HORI e SUGIYAMA, 2003) foram encontrados em todas as amostras. Sinais característicos de celulose microcristalina,  $1033\text{ cm}^{-1}$ ,  $1060\text{ cm}^{-1}$  e  $1160\text{ cm}^{-1}$  (HORI e SUGIYAMA, 2003) foram observados de forma mais similar nas amostras de nós da região do meio e topo do tronco (Figuras 3.13, 3.14 e 3.15).



**Figura 3.13:** Espectro de infravermelho com transformada de Fourier de nó sem extrativos da região de base de *P. elliotii* var. *elliotii*.



**Figura 3.14:** Espectro de infravermelho com transformada de Fourier de nó sem extrativos da região meio de *P. elliotii* var. *elliotii*.

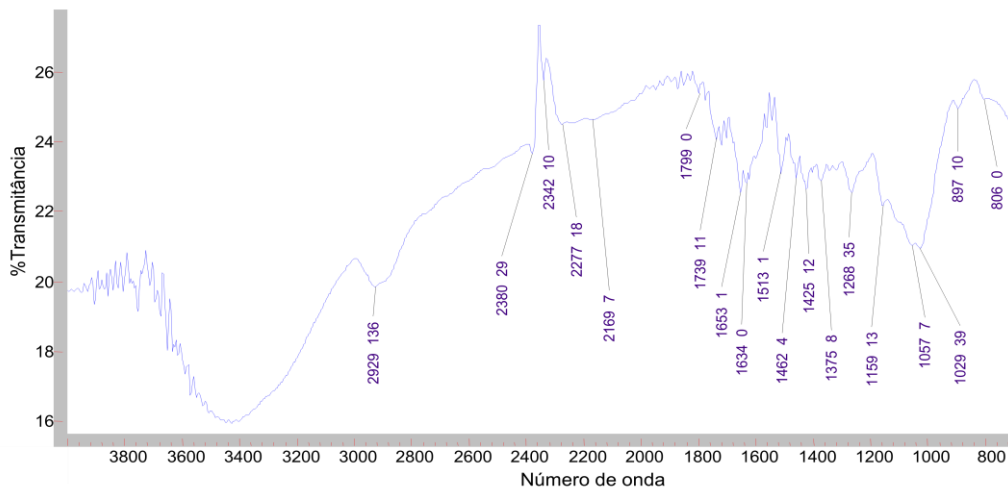


**Figura 3.15:** Espectro de infravermelho com transformada de Fourier de nó sem extrativos da região topo de *P. elliotii* var. *elliotii*.

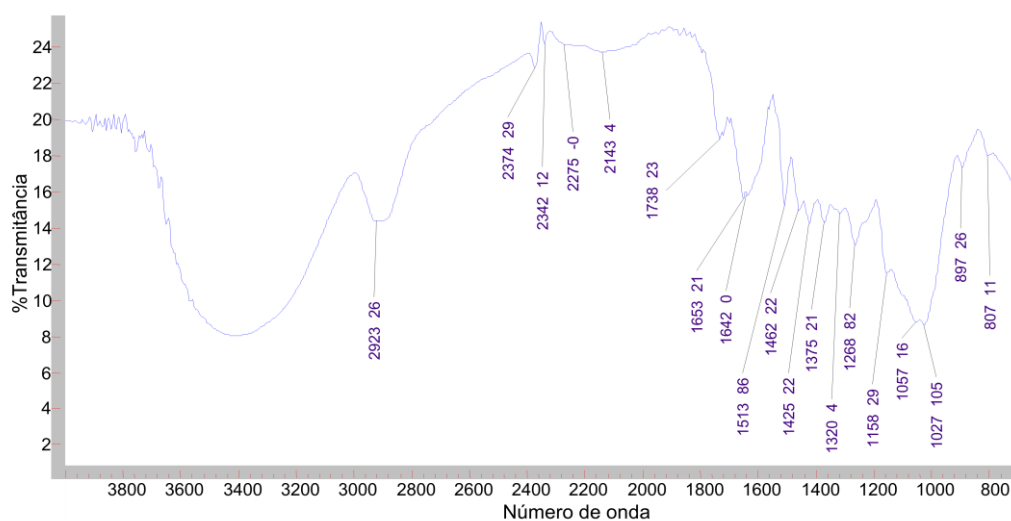
Assim como observado nas análises de RMN  $^{13}\text{C}$ , na FT-IR, maior similaridade foi observada entre a região de nó da base e regiões de madeira livre de nó. Nesses espectros os sinais característicos de celulose cristalina foram  $1155\text{ cm}^{-1}$  e  $1030\text{ cm}^{-1}$ . Sinais entre  $1030 - 1095\text{ cm}^{-1}$  e  $1266 - 1270$



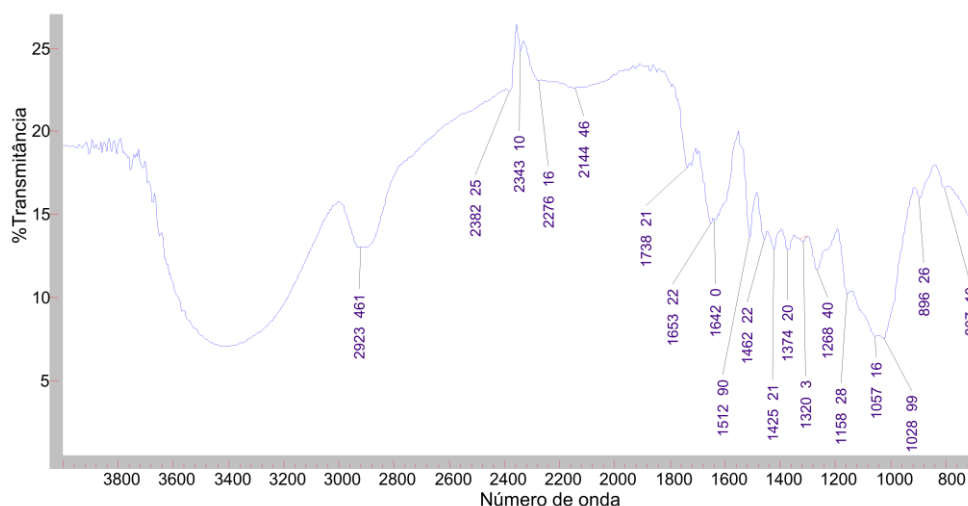
$\text{cm}^{-1}$ , característicos de deformação de C-H do anel guaiacílico e respiração do anel guaiacílico com contribuição do estiramento C=O, respectivamente, foram observados em todos os espectros (Figuras 3.16, 3.17 e 3.18).



**Figura 3.16:** Espectro de infravermelho com transformada de Fourier de madeira livre de nó sem extrativos da região base de *P. elliotii* var. *elliotii*.



**Figura 3.17:** Espectro de infravermelho com transformada de Fourier de madeira livre de nó sem extrativos da região meio de *P. elliotii* var. *elliotii*.



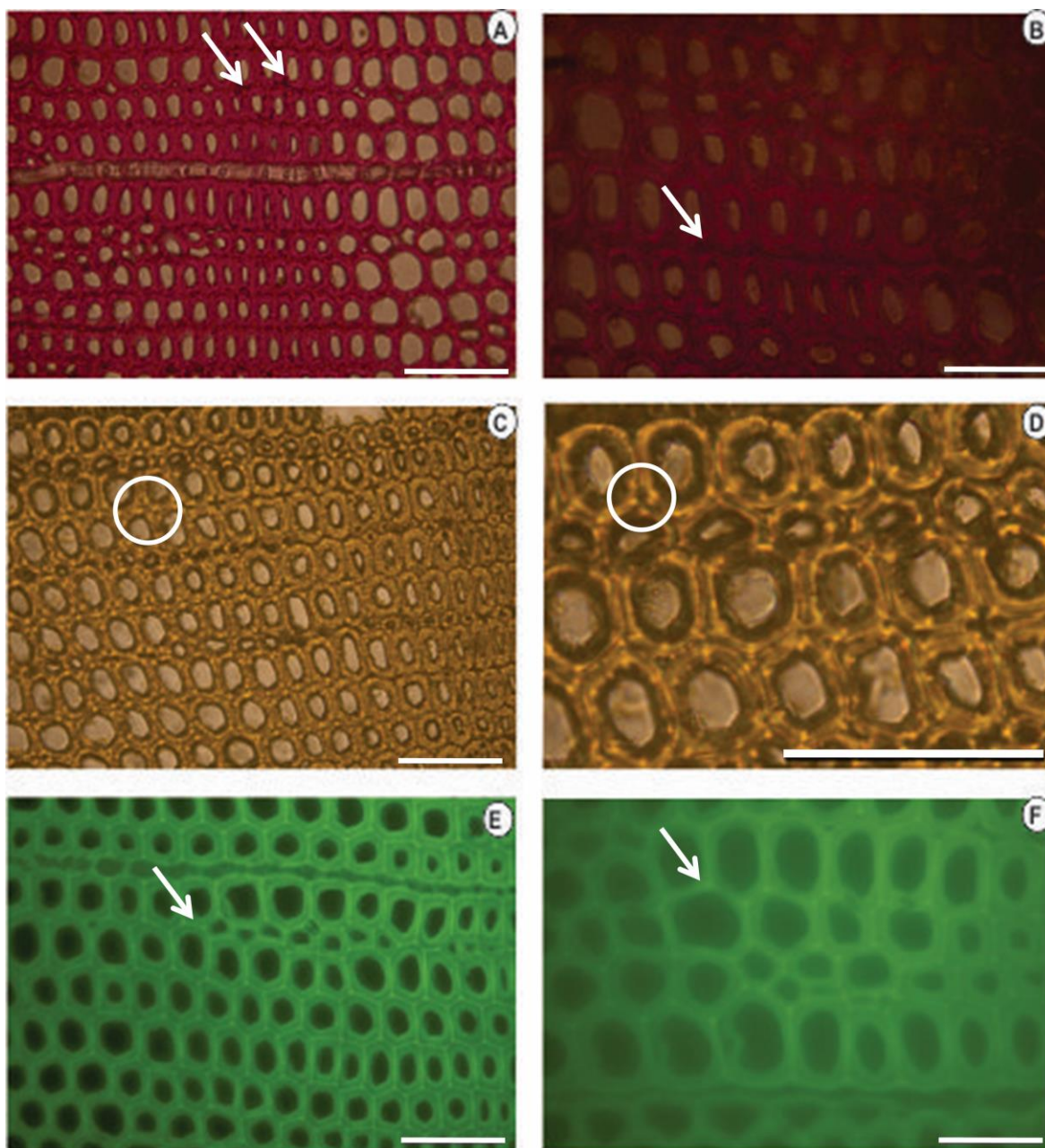
**Figura 3.18:** Espectro de infravermelho com transformada de Fourier de madeira livre de nó sem extrativos da região topo de *P. elliottii* var. *elliottii*.

### 3.5.4 Testes Histoquímicos

A lignificação da parede celular evidenciada pelo teste Wiesner mostrou-se divergente entre madeira de nó e madeira livre de nó (Figuras 3.19 e 3.20). Expressão de coloração mais intensa foi observada nos pontos de interseção das células das amostras de madeira livre de nós (Figura 3.19 – Letras A e B), indicando a presença de ligninas mais aldeídicas nessas amostras. Estudos mostraram que estruturas aldeídicas são montadas durante as fases iniciais de lignificação da parede de célula do xilema e que o teste de coloração Wiesner pode ser utilizado para a detecção específica dessas estruturas contidas na lignina (POMAR et al., 2002). Ros Barceló *et al.* (2000) utilizando seções de caule de *Zinnia elegans* L. tratadas com Wiesner e teste Maule observaram que a coloração de seções coradas com floroglucinol-HCl (Wiesner) estende-se além das células jovens de diferenciação do xilema, enquanto a coloração com a reação Maule é restrita a células já diferenciadas do xilema.

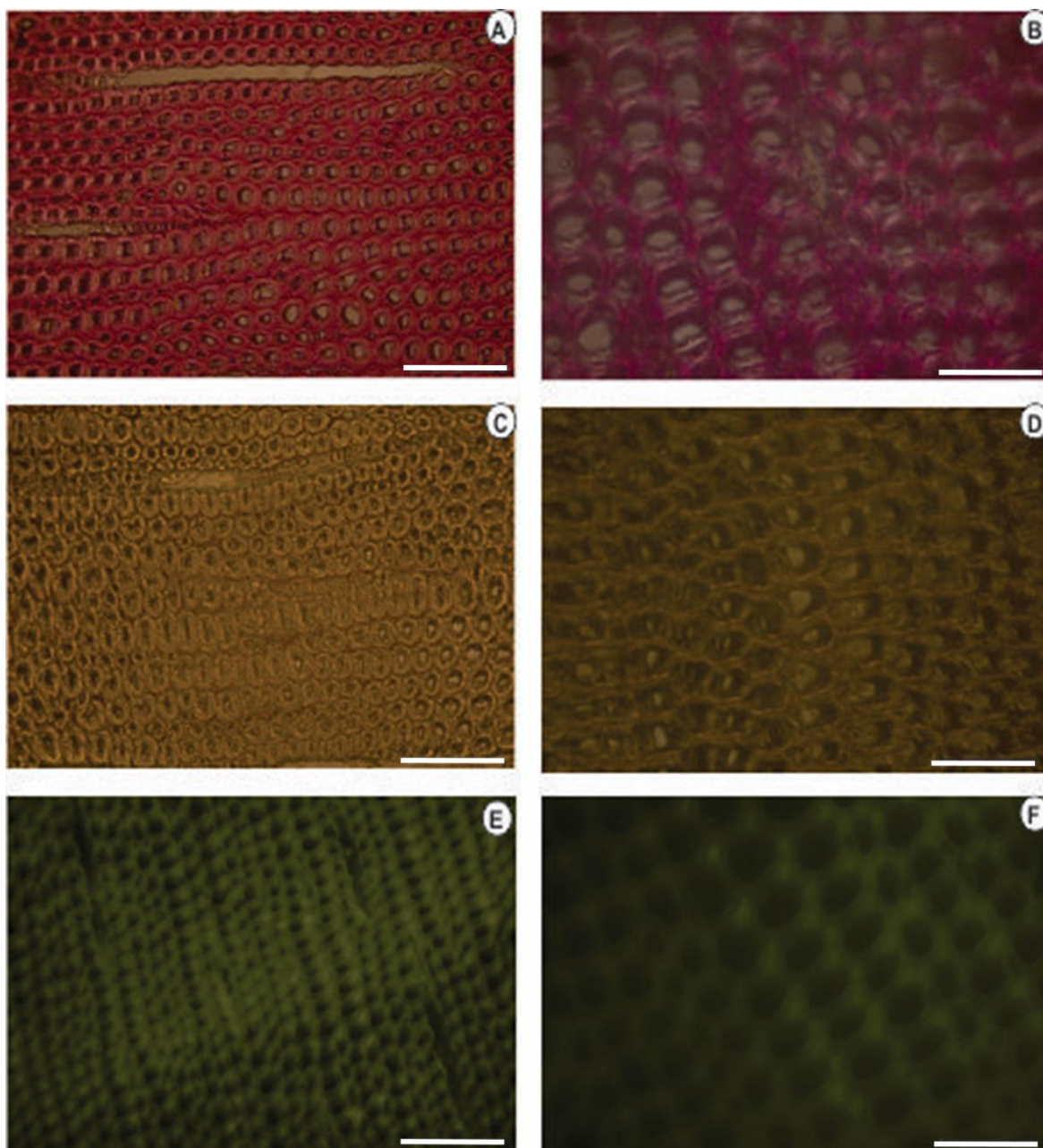
Comparado a resultados da literatura (FUKUSHIMA e TERASHIMA, 1991) e apoiados pelos resultados das análises químicas de lignina, em que menores conteúdos de lignina foram obtidos a partir de madeira livre de nós, é possível inferir que os tecidos de madeira livre de nó e madeira de nó, apesar de próximo, apresentam fases diferenciadas de lignificação. Visto que o processo de lignificação da parede celular inicia-se nos cantos da célula na lamela média e

regiões S1, espalhando-se através da parede secundária em direção ao lume (DONALDSON, 2001) e é controlado de forma significativa por traqueídes individuais (DONALDSON, 1994), a coloração marrom dourado observada nas células da madeira livre de nó a partir do teste Maüle sugere nível inferior de maturação da lignificação e menor conteúdo de lignina na parede celular. Na Figura 3.19 - Letras C e D, em corte transversal, é possível observar pontos destacados nos cantos de conexão das células oriundas das amostras de madeira livre de nó da região do meio do fuste. Patten *et al.* (2007) estudando a formação de tecido de reação em *Medicago sativa* (Fabaceae), constataram que o percentual de lignina pode aumentar em dez vezes entre os estágios de lignificação da parede celular. Esses autores observaram que quanto maior a proporção de lignina guaiacólica no tecido mais potencializada (marrom escuro) a reação do teste Maüle. Os resultados obtidos com os testes histoquímicos corroboram os obtidos com a ressonância magnética nuclear do  $^{13}\text{C}$ , em que maiores quantidades de sinais de carbonos característicos de lignina guaiacólica foram obtidos a partir dos espectros de regiões de madeira livre de nó. No teste de fluorescência, onde a presença e a localização da lignina são reveladas, foi possível observar lignina circundando as células das amostras de madeira livre de nós (Figura 3.19 – Letras E e F). Apesar dos testes histoquímicos, de RMN  $^{13}\text{C}$ , Infravermelho e % de Lignina Klason demonstrar a presença da lignina em todas as amostras analisadas, nas amostras provenientes de madeira de nós (Figura 3.20 – Letras E e F) a auto fluorescência da lignina foi menos intensa à observada nas amostras de madeira livre de nós.



**Figura 3.19:** Testes histoquímicos aplicados em seção transversal de madeira livre de nós de *P. elliotii* var. *elliotii*. A e B: teste de Wiesner evidenciando (→) presença de lignina mais aldeídica (coloração mais escura) nos cantos de iniciação do processo de lignificação. C e D: Teste de Maule evidenciando a presença de lignina <sup>(o)</sup> do tipo G. E e F: Auto fluorescência da lignina, mostrando processo de lignificação iniciado nos cantos (→) das células. Barras: (A, C, D, E) = 20 µm; (B e F) = 100 µm.





**Figura 3.20:** Testes histoquímicos aplicados em seção transversal de nós de *P. elliotii* var. *elliotii*. A e B: teste de Wiesner evidenciando lignina menos aldeídica (coloração mais clara quando comparada a coloração evidenciada na madeira livre de nós). C e D: Teste de Maule. E e F: Auto fluorescência da lignina. Barras: (A, C, E) = 20 µm; (B, D e F) = 100 µm.

A grande maioria das pesquisas científicas que estudam a macromolécula lignina, seus sítios de iniciação e a lignificação da parede celular, está limitada a investigação desses processos em células de madeira cujo crescimento é normal, ou, quando muito, células de compressão e reação (DONALDSON e KNOX, 2012; GRABBER, 2005; DONALDSON, 2001; WHETTEN e SEDEROFF, 1995). Dada a grande variedade encontrada na madeira, seja no sentido longitudinal ou radial, entre elementos anatômicos e mesmo entre os elementos químicos (SILVA

*et al.*, 2005; BALLARIN e PALMA, 2003; MUÑIZ, 1993; ZIMMERMANN e POTTER, 1982), é de se supor que os resultados obtidos em tais pesquisas expressam com certa aproximação, mas não fielmente, a dinâmica de formação anatômica e da composição química nas células que compõem a madeira dos nós.

Para Donaldson (2001), a lignificação diferenciada entre madeira normal e madeira de compressão é explicada pela variação química da parede celular, onde a lamela média das células de madeira com crescimento normal é mais lignificada do que a parede secundária. Em madeira de compressão, este padrão é significativamente modificado, com uma redução da lignificação na lamela média e aumento da lignificação na parede secundária exterior (DONALDSON, 2001).

O gradiente de concentração da auxina proposto por Aloni e Zimmermann (1983), também permite a menor deposição de lignina e elementos químicos secundários nas células das amostras livres de nós, tanto da base como do meio do tronco, visto que baixas concentrações de auxinas induzem a lenta diferenciação celular e que as células dessas regiões estão mais distantes das regiões produtoras de auxinas, o que limita a ação do hormônio (SHIMOYAMA, 2005; EVERT, 2013).

### 3.6 CONCLUSÃO

1- As metodologias utilizadas para a determinação do percentual e composição de lignina para a espécie *P. elliotii* var. *elliotii* foram adequadas.

2 - Existe um gradiente crescente de percentual de lignina entre madeira livre de nós, madeira de transição e madeira de nó.

3 - Nas traqueídes do nó a lignificação está em estágio mais avançado de maturação que as traqueídes de madeira livre de nós.

4 - A lignina presente nas traqueídes de madeira livre de nó são mais aldeídicas que ligninas das traqueídes de madeira de nó.

### 3.7 REFERÊNCIAS

ABREU, H. S. Estimativa por infravermelho da concentração da unidade estrutural  $\beta$ -O-4 em ligninas de angiospermas tropicais. **Química Nova**, v. 20, n. 6, p. 592-598, 1997.

ABREU, H. S.; CARVALHO, A. M.; MONTEIRO, M. B. O.; PEREIRA, R. P. W.; SILVA, H. R.; SOUZA, K. C. A.; AMPARADO, K. F.; CHALITA, D. B. Métodos de análise em química da madeira. **Floresta e Ambiente**, Série técnica, p. 01-20, 2006.

ABREU, H. S.; LATORRACA, J. V.; PEREIRA, R. P. W.; MONTEIRO, M. B. O.; ABREU, F. A.; AMPARADO, K. F. A Supramolecular Proposal of Ligninin Structure And its Relation with the Wood Properties. **Academia Brasileira de Ciência**, v. 81, n. 1, 2009.

ADLER, E. Lignin chemistry - past, present and future. **Wood Science and Technology**, v. 11, n. 3, p. 169-218, 1977.

ALI, M. B.; KHATUN, S.; HAHN, E. J.; PAEK, K. Y. Enhancement of phenylpropanoid enzymes and lignin in *Phalaenopsis* orchid and their influence on plant acclimatisation at different levels of photosynthetic photon flux. **Plant Growth Regulation**, v. 49, n. 2-3, p.137-146, 2006.

ALONI R, PETERSON C. A. Auxin promotes dormancy callose removal from the phloem of *Magnolia kobus* and callose accumulation and early wood vessel differentiation in *Quercus robur*. **Journal of Plant Research**, v. 110, n. 1, p. 37-44, 1997.

ALONI R. Differentiation of vascular tissues. **Plant Physiology**, v. 38, p. 179-204, 1987.

ALONI, R. The role of hormones in controlling vascular differentiation. **Plant Cell Monographs**, v. 20, p. 99-139, 2013.

ALONI, R.; ZIMMERMANN, M. H. The control of vessel size and density along the plant axis - A new hypothesis. **Differentiation**, v. 24, n. 1-3, p. 203-208, 1983.

Anselm payen "Hand Book of ceramics and composites". In: Cherimisinoff, N.P. (Ed.). **Lignocellulosic fiber reinforced polymer composite**. New York: Marcel Decker, v. I, p. 339, 1938.

ANDEREGG, R. J.; ROWE, J. W. Lignans, the major component of resin from *Araucaria angustifolia* knots. **Holzforschung**, v. 28, n. 5, p. 171-175, 1974.

ATALLA, R. H. Carbohydrates and their derivatives including Tannins, cellulose, and related lignins In: **Comprehensive Natural Products Chemistry**. v. 3. Elsevier Science, 1999.



BALLARIN, A. W.; PALMA, H. A. L. Propriedades de resistência e rigidez da madeira juvenil e adulta de *Pinus taeda* L. **Árvore**, v. 27, n. 3, p. 371-380, 2003.

BALLONI, C. J. V. **Caracterização física e química da madeira de *Pinus elliottii***. 42 p. (Monografia) - Engenharia Industrial Madeireira, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Itapeva, 2009.

BAPTISTA, C. M. C. **Influência das condições de cozimento sobre a estrutura da lenhina e a branqueabilidade da pasta kraft de *Pinus pinaster***. 481 p. Tese (Doutorado em Química) - Universidade da Beira Interior, Lisboa, 2006.

BARCELÓ, A. R. Lignification in plant cell-walls. **International Review of Cytology**, v. 176, p. 87-132, 1997.

BIDLACK, J.; MALONE, M.; BENSON, R. Molecular structure and component integration of secondary cell wall in plants. **Proceedings of the Oklahoma Academy of Science**, n. 72, p. 51-56, 1992.

BLAND, D. E.; FOSTER, R. C.; LOGAN, A. F. The mechanism of permanganate and osmium tetroxide fixation and the distribution of lignin in the cell wall of *Pinus radiata*. **Holzforschung**, v. 25, n. 5, p. 137-143, 1971.

BOUTELJE, J. B. On the anatomical structure, moisture content, density, shrinkage, and resin content of the wood in and around knots in Swedish pine (*Pinus sylvestris* L.) and in Swedish spruce (*Picea abies* Karst.). **Svensk Papperstidn**, v. 69, p. 1-10, 1966.

BOYD, J. D. The growth stresses: evidence of a origin in differentiation and lignification. **Wood Science and Technology**, v. 6, p. 251-262, 1972.

BRITEZ, C. A.; NOGUEIRA, V. **Inter-relação entre as propriedades e a microestrutura das madeiras**. 25 p. Departamento de Engenharia de Construção Civil – Universidade de São Paulo, 2006.

BROWNING, B.L. **Methods of wood chemistry** – Interscience Publishers – New York, v.2. 800 p, 1967.

BUKSNOWITZ, C.; HACKSPIEL, C.; HOFSTETTER, K.; MÜLLER, U.; GINDL, W.; TEISCHINGER, A.; KONNERTH, J. Knots in trees: strain distribution in a naturally optimised structure. **Wood Science and Technology**, v. 44, p. 389-398, 2010.

BURGER, L.M.; RICHTER, H.G. **Anatomia da madeira**. São Paulo: Nobel, 1991. 154 p.

CARVALHO, W.; CANILHA, L.; FERRAZ, A.; MILAGRES, A. M. F. Uma visão sobre a estrutura, composição e biodegradação da madeira. **Química Nova**, v. 32, n. 8, p. 2191-2195, 2009.

CHEN, H.; FERRARI, C.; ANGIULI, M.; YAO, J.; RASPI, C.; BRAMANTI, E. Qualitative and quantitative analysis of wood samples by Fourier transform infrared spectroscopy and multivariate analysis. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 3, p. 772-778, 2010.

CHEN, Y. A.; SHIN, J. W.; LIU, Z. H. Effect of light on peroxidase and lignin synthesis in mungbean hypocotyls. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 40, n. 1, p. 33-39, 2002.

CIENFUEGOS, F.; VAITSMAN, D. **Análise instrumental**. Rio de Janeiro: Interciência; 2000. 606 p.

CUNHA, F. C. **Modelos de calibração multivariada associados à espectroscopia vibracional para análise de misturas diesel-óleos vegetais**. 108 p. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

DE MICCO, V.; RUEL, K.; JOSELEAU, J. P.; GRIMMA-PETTENATI, J.; ARONNE, G. Xylem anatomy and cell wall ultrastructure of *Nicotiana tabacum* L. after genetic modification through transcriptional activator EGMYPB2. **IAWA**, v. 33, p. 269-286, 2012.

DEAN, J. F. D. Lignin analysis. In: DASHEK, W. V. (Ed.). **Methods in plant biochemistry and molecular biology**. Boca Raton: CRC Press, 1997. p. 199-215.

DONALDSON, L. A. Lignification and lignin topochemistry – an ultrastructural view. **Phytochemistry**, v. 57, p. 859-873, 2001.

DONALDSON, L. A. Lignification and lignin topochemistry — an ultrastructural view. **Phytochemistry**, v. 57, n. 6, p. 859–873, 2001.

DONALDSON, L. A. Mechanical constraints on lignin deposition during lignifications. **Wood Science and Technology**, v. 28, n. 2, p. 111-118, 1994.

DONALDSON, L. A.; KNOX, J. P. Localization of cell wall polysaccharides in normal and compression wood of *Radiata Pine*: relationships with lignification and microfibril orientation. **Plant Physiology**, v. 158, n. 2, p. 642-653, 2012.

DONALDSON, L. A.; RADOTIĆ, R.; KALAUZI, A.; DJIKANOVIC, D.; JEREMIĆ, M. Quantification of compression wood severity in tracheids of *Pinus radiata* D. Don using confocal fluorescence imaging and spectral deconvolution. **Journal of Structural Biology**, v. 169, n. 1, p. 106-115, 2010.

DONALDSON, L. Softwood and hardwood lignin fluorescence spectra of wood cell walls in different mounting media. **Iawa**, v. 34, n. 1, p. 3-19, 2013.

DUARTE, A. P.; ROBERT, D.; LACHENAL, D. *Eucalyptus globulus* kraft pulp residual lignins. Part 2. Modification of residual lignin structure in oxygen bleaching. **Holzforschung**, v. 55, n.6, p. 645-651, 2001.

DUFRESNE, A.; BELGACEM, M. N. Cellulose-reinforced composites: from micro- to nanoscale. **Polímeros**, v. 23, n. 3, p. 277-286, 2013.

EVANS, R.; ILIC, J. Rapid prediction of wood stiffness from microfibril angle and density. **Forest products journal**, v. 51, n. 3, p. 53-57, 2001.

EVERT, R. F. **Anatomia das plantas de Esau: meristemas, células e tecidos do corpo da planta: sua estrutura, função e desenvolvimento**. Blucher, 726 p. 2013.

FAHMI, R.; BRIDGWATER, A. V.; THAIN, S. C.; DONNISON, I. S.; MORRIS, P.M.; YATES, N. Prediction of Klason lignin and lignin thermal degradation products by Py–GC/MS in a collection of *Lolium* and *Festucagrasses*. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 80, n. 1, p. 16-23, 2007.

FAIX, O. Fourier Transform Infrared Spectroscopy. **Methods in Lignin Chemistry**. Springer Series in Wood Science. 1992, p. 83-109.

FAN, L.; LINKER, R.; GEPSTEIN, S.; TANIMOTO, E.; YAMAMOTO, R.; NEUMANM, P. M. Progressive inhibition by water deficit of cell wall extensibility and growth along the elongation zone of maize roots is related to increased lignin metabolism and progressive stelar accumulation of wall phenolics. **Plant Physiology**, v. 140, n. 2, p. 603-612, 2006.

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood: chemistry, ultrastructure, reactions**. Verlag Kessel. Berlin. 613 p. 2003.

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood: chemistry, ultrastructure, reactions**. Walter de Gruyter, Berlin. 613. 1984.

FOSKET, D. E. **Plant growth and development: a molecular approach**. San Diego: Academic Press, 580p. 1994.

FRANKENSTEIN, C.; SCHMITT, U.; KOCH, G. Topochemical studies on modified lignin distribution in the xylem of poplar (*Populus* spp.) after wounding. **Annals of Botany**, n. 97, p. 195–204, 2006.

FREUDENBERG, K. Constitution and biosynthesis of lignin. In: FREUDENBERG, K.; NEISH, A. C. (eds.). **Wood: chemistry, ultrastructure, reactions**. Berlin & New York: Walter de Gruyter, 1968. Cap. 2.

FREUDENBERG, K. Constitution and biosynthesis of lignin. In: FREUDENBERG, K.; NEISH, A. C. (eds.). **Wood: chemistry, ultrastructure, reactions**. Berlin & New York: Walter de Gruyter, 1968. Cap. 2.

FROASS, P. M.; RAGAUSKAS, A. J.; JIANG, J.-ER. Chemical structure of residual lignin from kraft pulp. **Journal of Wood Chemistry and Technology**, v. 16, n. 4, p. 347-365, 1996.

FUKUSHIMA K.; TERASHIMA N. Heterogeneity in formation of lignin. **Wood Science and Technology**, v. 25, n. 5, p. 371-381, 1991.

GATTO D. A.; CALEGARI, L.; SANTINI, E. J.; STANGERLIN, D.M.; TREVISAN, R.; OLIVEIRA, R. S. Propriedades da madeira de *Pinus elliottii* Engelm submetida a diferentes temperaturas de secagem. **Revista Cerne**, v. 14, n. 3, p. 220-226, 2008.

GEIGER, H.; FUGGERERA, H. On the chemistry of the Wiesner reaction on lignin. **Naturforsch**, v. 34 b, p. 1471-1472, 1979.

GHANATI, F.; MORITA, A.; YOKOTA, H. Deposition of suberin in roots of soybean induced by excess boron. **Plant Science**, v.168, n. 2, p. 397-405, 2005.

GOTELLI, N. J.; ELLISON, A. M. **Princípios de estatística em ecologia**. Porto Alegre: Artmed, 2011.

GOTTLIEB, O. O; YOSHIDA, M. Lignans. In: Rowe, J. W. (ed.). **Natural products of Wood plants**. Springer Berlin Heidelberg. 1989. Chapter 7, p. 439-511.

GRABBER, J. H. How do lignin composition, structure, and cross-linking affect degradability? A review of cell wall model studies. **Science Society of America**, v. 45, n. 3, p. 820-831, 2005.

GUIMARÃES, C. S.; LACORTE, C.; BRASILEIRO, A. C. M. Transformação genética em espécies florestais. **Revista Ciência Florestal**, v.13, n. 1, p. 167-178, 2003.

GÜLÇİN, I.; ELIAS, R.; GEPIREMEN, A.; BOYER, L. Antioxidant activity of lignans from fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.). **European Food Research and Technology**, v. 223, n. 6, p. 759-767, 2006.

HÄGGLUND, E.; LARSSON, S. Om grankvistens kemiska sammansättning och dess förhållande vid sulfatkoknings processen. **Svensk Papperstidn**, v. 40, p. 356-360, 1937.

HAWKINS, S.; BOUDET, A. Defence lignin' and hydroxycinnamyl alcohol dehydrogenase activities in wounded *Eucalyptus dunnii*. **Forest Pathology**, v.33, n. 2, p. 91-104, 2003.

HILAL, M.; PARRADO, M. F.; ROSA, M.; GALLARDO, M.; ORCE, L. Epidermal lignin deposition in quinoa cotyledons in response to UV-B radiation. **Photochemistry and Photobiology**, v. 79, n. 2, p. 205-210, 2004.

HILLIS, W. E.; INOUE, T. The formation of polyphenols in trees-IV : The polyphenols formed in *Pinus radiata* after *Sirex* attack. **Phytochemistry**, v. 7, n. 1, p. 13-22, 1968.

HOLMBOM, B.; ECKERMAN, C.; EKLUND, P.; HEMMING, J.; NISULA, L.; REUNANEN, M.; SJÖHOLM, R.; SUNDBERG, A.; SUNDBERG, K.; WILLFÖR, S. Knots in trees – A new rich source of lignans. **Phytochemistry Reviews**, n. 2, p. 331-340, 2003.

HORI, R.; SUGIYAMA, J. A combined FT-IR microscopy and principal component analysis on softwood cell walls. **Carbohydrate Polymers**, v. 52, n. 4, p. 449-453, 2003.

INOUE, K.; SEWALT, V. J. H.; BALLANCE, G. M.; NI, W.; STÜRZER, C.; DIXON, R. A. Developmental expression and substrate specificities of alfalfa caffeic acid 3-

O-methyltransferase and caffeoyl coenzyme A 3-O-methyltransferase in relation to lignification. **Plant Physiology**, v. 117, n. 3, p. 761–770, 1998.

JANAS, K. M.; CVIKROVÁ, M.; PALAGIEWICZ, A.; EDER, J. Alterations in phenylpropanoid content in soybean roots during low temperature acclimation. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 38, n. 7-8, p. 587-593, 2000.

JANAS, K. M.; CVIKROVÁ, M.; PALAGIEWICZ, A.; SZAFRANSKA, K.; POSMYK, M. M. Constitutive elevated accumulation of phenylpropanoids in soybean roots at low temperature. **Plant Science**, v. 163, n. 2, p. 369-373, 2002.

KIM, Y. J.; KIM, D. G.; LEE, S. H.; LEE, I. Wound-induced expression of the ferulate 5-hydroxylase gene in *Camptotheca acuminata*. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)**, v. 1760, n. 2, p. 182-190, 2006.

KLASON, P. Über Lignin und Lignin-Reaktionen. **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 53, n. 5, p. 706-711, 1920.

KLINKE, H. B.; LILHOLT, H.; TOFTEGAARD, H.; ANDERSEN, T. L.; SCHMIDT, A. S.; THOMSEN, A. B. Wood and plant fibre reinforced polypropylene composites. In: **Proceedings**, v. 2, Biomass for energy and industry: 1<sup>st</sup> World conference and technology exhibition, Sevilla, p. 1082-1085, 2000.

KLOCK, U.; MUNIZ, G. I. B.; HERNANDEZ, J. A.; ANDRADE, A.S. **Apostila de química da madeira**. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2005.

KOCH, G.; KLEIST, G. Application of scanning UV microspectrophotometry to localise lignins and phenolic extractives in plant cell walls. **Holzforschung**, v. 55, p. 563-567, 2001.

KUBO, S.; KADLA, J. K. Hydrogen bonding in lignin: a fourier transform infrared model compound study. **Biomacromolecules**, v. 6, p. 2815-2821, 2005.

KUSUMOTO, D. Concentrations of lignin and wall-bound ferulic acid after wounding in the phloem of *Chamaecyparis obtuse*. **Trees**, v. 19, n. 4, p. 451-456, 2005.

LAGO, J. H. G.; ROQUE, N. F. Estudo fitoquímico da madeira de *Guarea macrophylla* (meliaceae). **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2351-2354, 2009.

LANDUCCI, L. L.; RALPH, S. A.; AMMEL, K. E. <sup>13</sup>C NMR characterization of guaiacyl, guaiacyl/syringyl and syringyl dehydrogenation polymers. **Holzforschung**, v. 52, n. 2, p. 160-170, 1998.

LEWIS, N. G.; YAMAMOTO, E. Lignin: occurrence, biogenesis and biodegradation. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 41, p. 455-496, 1990.

LIN, C. C.; CHEN, L. M.; LIU, Z. H. Rapid effect of copper on lignin biosynthesis in soybean roots. **Plant Science**, v. 168, n. 3, p. 855-861, 2005.

LIN, S. Y.; DENCE, C. W. **Methods in lignin chemistry**. Berlim: Spring-Verlag, 568 p. 1992.

LINDBERG, L. E.; WILLFÖR, S. M.; HOLMBOM, B. R. Antibacterial effects of knotwood extractives on paper mill bacteria. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 31, n. 3, p. 137-147, 2004.

LIU, L.; DEAN, J. F. D.; FRIEDMAN, W. E.; ERIKSSON, K-E. L. A laccase-like phenoloxidase is correlated with lignin biosynthesis in *Zinnia elegans* tissues. **Plant Journal**, v. 6, n. 2, p. 213-224, 1994.

LOBÃO, M. S.; LÚCIA, R. M. D.; MOREIRA, M. S. S.; GOMES, A.; Caracterização das propriedades físico-mecânicas da madeira de Eucalipto com diferentes densidades. **Revista Árvore**, v. 20, n. 6, p. 889-894, 2004.

MARTONE, P. T.; ESTEVEZ, J. M.; LU, F.; RUEL, K.; DENNY, SOMERVILLE, C. RALPH J. Discovery of Lignin in Seaweed Reveals Convergent Evolution of Cell-Wall Architecture. **Current Biology**, v.19, n. 2, p. 169–175, 2009.

MICIC, M.; MILORAD, J.; RADOTIC, K.; MAVERS, M.; LEBLANC, R. M. A Visualization of artificial lignin supramolecular structures. **Scanning**, v. 22, n. 5, p. 288-294, 2000.

MOKFIENSKI, A. **Importância relativa da densidade básica e da constituição química de madeira de *Eucalyptus* spp. no rendimento, branqueabilidade da qualidade da polpa Kraft**. 136 p. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

MOLLENHAUER, H. Permanganate fixation of plant cells. **Biophysical and Biochemical Cytology**, v. 6, n. 3, p. 431-436, 1959.

MÖLLER, R.; BALL, R. D.; HENDERSON, A. R.; MODZEL, G.; FIND, J. Effect of light and activated charcoal on tracheary element differentiation in callus cultures of *Pinus Radiata* D. Don. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 84, n. 2, p. 161-171, 2006.

MONTIES, B. Molecular structure and biochemical properties of lignins in relation with possible self-organization of lignin network. **Annales des Siences Forestières**, v. 46-suppl., p. 846-855, 1989.

MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A.; MELO, D. C. Análise da madeira de *Pinus oocarpa* parte I – estudo dos constituintes macromoleculares e extrativos voláteis. **Árvore**, v. 29, n. 3, p. 46-470, 2005.

MOURA, J. C. M.; **Controle do teor de lignina em *Eucalyptus*, variação interespecífica e induzida por frio**. 99 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

MOURA, L. F.; BRITO, J. O. Influência da desrama artificial sobre a densidade básica, a composição química e as características das traqueídes da madeira de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* Barr. Et. Golf. **Revista Árvore**, v. 25, n. 3, p. 369-374, 2001.

MUÑIZ, G. I. B. **Caracterização e Desenvolvimento de Modelos para Estimar as Propriedades e o Comportamento na Secagem da Madeira de *Pinus elliottii* Engelm. e *Pinus taeda* L.** Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Setor de Ciências Agrária, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1993.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. Artmed, 1336 p. 2014.

NIMZ, H. H.; TSCHIRNER, U.; STÄHLE, M.; LEHMANN, R.; SCHLOSSER, M. Carbon-13 NMR spectra of lignins, comparison of structural units in spruce and beech lignin. **Journal of Wood Chemistry and Technology**, v. 4, n. 3, p. 265-284, 1984.

NISHIYAMA, Y.; LANGAN, P.; CHANZY, H. Crystal structure and hydrogen-bonding system in cellulose I $\beta$  from synchrotron X-ray and neutron fiber diffraction. **Journal of the American Chemical Society**, v. 124, n. 31, p. 9074-9082, 2002.

OBST, J. R.; LANDUCCI, L. L. Quantitative <sup>13</sup>C NMR of lignins – methoxyl : aryl ratio. **Holzforschung**, v. 40 – suppl., p. 87-92, 1986.

OLENICHENKO, N. A.; ZAGOSKINA, N. V. Response of winter wheat to cold: Production of phenolic compounds and L-phenylalanine ammonia lyase activity. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 41, n. 6, p. 600-603, 2005.

OLIVEIRA, J. T. S. **Caracterização da madeira de eucalipto para construção civil**. 429 p. Tese (Doutorado em Engenharia) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

OLIVEIRA, R. M. **Utilização de técnicas de caracterização de superfícies de madeiras tratadas termicamente**. 123 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

PAËS, G. Fluorescent probes for exploring plant cell wall deconstruction: a review. **Molecules**, v. 19, p. 9380-9402, 2014.

PANDEY, K. K. Study of the effect of photo-irradiation on the surface chemistry of wood. **Polymer Degradation and Stability**, v. 90, n. 1, p. 9-20, 2005.

PARK, S.; BAKER, J. O.; HIMMEL, M. E.; PARILLA, P. A.; JOHNSON, D. K. Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. **Biotechnology for Biofuels**, v. 3, p. 1-10, 2010.

PATTEN, A. M.; CARDENAS, C. L.; COCHRANE, F. C.; LASKAR, D. D.; BEDGAR, D. L.; DAVIN, L. B.; LEWIS, N. G. Reassessment of effects on lignification and vascular development in the *irx4 Arabidopsis* mutant. **Phytochemistry**, v. 66, n. 17, p. 2092-2107, 2005.

PATTEN, A. N.; JOURDES, M.; BROWN, E. E.; LABORIE, M-P.; DAVIN, L. B.; LEWIS, N. G. Reaction tissue formation and stem tensile modulus properties in wild-type and p-coumarate-3-hydroxylase down regulated lines of alfalfa,

*Medicago sativa* (Fabaceae). **American Journal of Botany**, v. 94, n. 6, p. 912-925, 2007.

PHELAN, M.; AHERNE, S. A.; WONG, A.; O'BRIEN, N. M. Bioactive properties of wood knot extracts on cultured human cells. **Journal of Medicinal Food**, v. 12, n. 6, p.1245-1251, 2009.

PIETARINEN, S. P.; WILLFÖR, S. M.; AHOTUPA, M. O.; HEMMING, J. E.; HOLMBOM, B. R. Knot wood and bark extracts: strong antioxidants from waste materials. **Journal of Wood Science**, v. 52, n. 5, p. 436-444, 2006.

PILATE, G.; CHABBERT, B.; CATHALA, B.; YOSHINAGA, A.; LEPLE, J. C.; LAURANS, F.; LAPIERRE, C.; RUEL, K. Lignification and tension wood. **Comptes Rendus Biologies**, v. 327, n. 9, p. 889-901, 2004.

POMAR, F.; MERINO, F.; ROS BARCELÓ, A. O-4-Linked coniferyl and sinapyl aldehydes in lignifying cell walls are the main targets of the Wiesner (phloroglucinol-HCl) reaction. **Protoplasma**, v. 220, p. 17-28, 2002.

PRETO, M. S. M. **Avaliação dos componentes do capim navalha por RMN**. 62 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Polímeros) – Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

RIGATTO, P. A.; DEDECEK, R. A.; MATOS, J. L. M. Influência dos atributos do solo sobre a qualidade da madeira de *Pinus taeda* para produção de celulose kraft. **Revista Árvore**, v. 28, n. 2, p. 267-273, 2004.

ROBERT J. ANDEREGG, R. J.; J. W. Lignans, the major component of resin from *Araucaria angustifolia* knots. **Holzforschung**, v. 28, n. 5, p. 171-175, 1974.

ROBERT, D. **Carbon-13 nuclear magnetic resonance. Methods in lignin chemistry**. LIN, S. -Y.; DENCE, C. W. (Eds.), Springer Series in Wood Science, Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Capítulos 5-4, p. 250- 273, 1992.

RODRIGUES, C. K. Um breve estudo sobre a abordagem do teorema central do limite nos livros-texto. In: XIII CONFERÊNCIA INTERAMERICANA DE EDUCAÇÃO MATEMÁTICA, 2011, Recife. **Anais...** Recife, 2011.

RODRIGUES, E. D. **Estratégias de aumento de eficiência da análise de produtos naturais por espectroscopia de ressonância magnética nuclear**. 231 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

ROS BARCELÓ, A.; POMAR, F.; PEDREÑO, M. A. Competitive inhibitor-dissected histochemistry of the peroxidase responsible for syringyl lignin biosynthesis in *Z. elegans* xylem. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 27, p. 1101-1107, 2000.

SAHLBERG, U. Influence of knot fibers on TMP properties. **Tappi journal**, v. 78, n. 5, p.162-168, 1995.



SALES, C.G. Growth stresses: main results obtained on the study of guyana species and consequences for and use. In: IUFRO WORLD CONGRESS, 18., 1986, Ljubljana. **Proceedings...** Ljubljana: IUFRO, 1986. v. 5, p. 234-248.

SALIBA, E. O. S.; RODRIGUES, M. N.; MORAIS, S. A. L.; PILÓ-VELOSO, D. Ligninas - métodos de obtenção e caracterização química. **Ciência Rural**, v. 31, n. 5, p. 917-928, 2001.

SANSÍGOLO, C. A.; BARREIROS, R. M. Qualidade da madeira de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* para produção de celulose kraft. In: CONGRESSO ANUAL DE CELULOSE E PAPEL DA ABTCP, 31., São Paulo, 1998. **Anais...** São Paulo: ABCP, 1998, p. 417- 429.

SCANAVACA-JUNIOR, L.; GARCIA, J. N. Determinação das propriedades físicas e mecânicas da madeira de *Eucalyptus urophylla*. **Scientia Forestalis**, v. 65, p. 120-129, 2004.

SHIGO A. L. How tree branches are attached to trunks. **Canadian Journal of Botany**, n. 63, v. 8, p.1391-1401, 1985.

SHIMOYAMA, V. R. S. **Estimativas de propriedades da madeira de Pinus taeda através do método não destrutivo emissão de ondas de tensão, visando a geração de produtos de alto valor agregado**. 151 p. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

SILVA, J. C. **Caracterização da madeira de Eucalyptus grandis Hill ex. Maiden, de diferentes idades, visando a sua utilização na indústria moveleira**. Curitiba, 160 p. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2002.

SILVA, J. C.; MATOS, J. L. M.; OLIVEIRA, J. T. EVANGELISTA, W. V. Influência da idade e da posição ao longo do tronco na composição química da madeira de *Eucalyptus grandis* Hill ex. Maiden. **Revista Árvore**, v. 29, n. 3, p. 455-460, 2005.

SILVEIRA, A. J. A. **Química Orgânica Teórica**. 342 p; Belém: Ufpa, 2010.

SILVERSTEIN, R. M. Espectrometria no infravermelho. In: SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. (Org.). ALENCASTRO, R. B. (Trad.). **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. Cap. 3.

SJOSTROM, F. **Wood chemistry fundamentals and application**. New York: Academic Press, 223p. 1993.

SOUZA, N. D.; ABREU, H. S.; ELIAS, T. F.; LATORRACA, J. F. L.; MAEDA, J. M. Dados de carbono molecular do extrato ciclo-hexano da madeira de *Eucalyptus urophylla* S. T. Blacke por RMN de <sup>13</sup>C. **Floresta e Ambiente**, v. 18, n. 2, p. 186-197, 2011.

STAM, A. J. **Wood and cellulose science**. New York. Ronald Press. 1964.

SU, G.; AN, Z.; ZHANG, W.; LIU, Y. Light promotes the synthesis of lignin through the production of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mediated by diamine oxidases in soybean hypocotyls. **Journal of Plant Physiology**, n. 162, p. 1297-1303, 2005.

TAI, D-S.; CHEN, C-L.; GRATZL, J. S. Chemistry of Delignification During Kraft Pulping of Bamboos. **Wood Chemistry and Technology**, v. 10, n. 1, p. 75-99, 1990.

TEIXEIRA, A. F.; ANDRADE, A. B.; FERRARESE - FILHO, O.; FERRARESE, M. L. L. Role of calcium on phenolic compounds and enzymes related to lignification in soybean (*Glycine max* L.) root growth. **Plant Growth Regulation**, v. 49, n. 1, p. 69-76, 2006.

THOMPSON, L. U. Lignans and isoflavones. In: EISENBRAND, G.; DAYAN, A. D.; ELIAS, P. S.; GRUNOW, W.; SCHLATTER, J. (Ed.). **Carcinogenic/anticarcinogenic factors in food: novel concepts?** Germany: DFG symposium, 2000. p. 348-364.

THYGESEN, A.; ODDERSHEDE, J.; LILHOLT, H.; THOMSEN, A. B.; STAHL, K. On the determination of crystallinity and cellulose content in plant fibres. **Cellulose**, v. 12, n. 6, p. 563-576, 2005.

TONG, Q.; DUCHESNE, I.; BELLEY, D.; BEAUDOIN, M.; SWIFT, E. Characterization of knots in plantation white spruce. **Wood and Fiber Science**, n. 45, p. 84-97, 2013.

TRUGILHO, P. F.; LIMA, J. T.; MENDES, L. M. Influência da idade nas características físico-químicas e anatômicas da madeira de Eucalyptus saligna. **Revista Cerne**, v. 2, n. 1, p. 94-111, 1996.

TURLEY, D.B.; CHAUDHRY, Q.; WATKINS, R.W.; CLARK, J.H.; DESWARTE, F.E.I. Chemical products from temperate forest tree species—Developing strategies for exploitation. **Industrial Crops and Products**, n. 24, p. 238-243, 2006.

VALE, A. T.; DIAS, I. S.; SANTANA, M. A. E. Relações entre propriedades químicas, físicas e energéticas da madeira de cinco espécies de cerrado. **Revista Ciência Florestal**, v. 20, n. 1, p. 137-146, 2010.

VAZQUEZ-COOZ, I.; MEYER, R.W. A differential staining method to identify lignified and unlignified tissues. **Biotechnic and Histochemistry**, v. 77, n. 5-6, p. 277-282, 2002.

VINCENT, D.; LAPIERRE, C.; POLLET, B.; CORNIC, G.; NEGRONI, L.; ZIVY, M. Water deficits affect caffeate O-Methyltransferase, lignification, and related enzymes in maize leaves. A proteomic investigation. **Plant Physiology**, v.137, n. 3, p. 949-960, 2005.

WARDROP, A. B.; PRESTON, R. D. Organization of the cell walls of tracheids and wood fibres. **Nature**, v. 160, p. 911-913, 1947.

WHETTEN, R.; SEDEROFF, R. Lignin Biosynthesis. **Plant Cell**, v. 7, n. 7, p. 1001-1013, 1995.

WILKIE, J. S. Carl Nägeli and the fine structure of living matter. **Nature**, v. 190, p. 1145-1150, 1961.

WILLFÖR, S.; HEMMING, J.; REUNANEN, M.; ECKERMAN, C.; HOLMBOM, B. Phenolic and lipophilic extractives in Scots pine knots and stem wood. **Holzforschung**, v. 57, n. 1, p. 27-36, 2003.

WILLFÖR, S.; HEMMING, J.; REUNANEN, M.; HOLMBOM, B. Phenolic and lipophilic extractives in Scots pine knots and stem wood. **Holzforschung**, v. 57, n. 4, p. 359-372, 2003. (a)

WILLFÖR, S.; NISULA, L.; HEMMING, J.; REUNANEN, M. HOLMBOM, B. Bioactive phenolic substances in industrially important tree species. Part 1: Knots and stem wood of different spruce species. **Holzforschung**, v. 58, n. 4, p. 335-344, 2003.

WILLFÖR, S.; NISULA, L.; HEMMING, J.; REUNANEN, M. HOLMBOM, B. Bioactive phenolic substances in industrially important tree species. Part 1: Knots and stem wood of different spruce species. **Holzforschung**, v. 58, n. 4, p. 335-344, 2003.

YANG, D.; YING, Y. Applications of Raman Spectroscopy in Agricultural Products and Food Analysis: A Review. *Applied Spectroscopy Reviews*, v. 46, n. 7, p. 539-560, 2011.

ZAGOSKINA, N. V.; OLENICHENKO, N. A.; KLIMOV, S. V.; ASTAKHOVA, N. V.; ZHIVUKHINA, E. A.; TRUNOVA, T. I. The effects of cold acclimation of winter wheat plants on changes in CO<sub>2</sub> exchange and phenolic compound formation. **Russian Journal of Plant Physiology**. v. 52, n.3, p. 320-325, 2005.

ZERN, T. L; FERNANDEZ, M. L. Cardioprotective effects of dietary polyphenols. **The Journal of Nutrition**, v. 135, p. 2291-2294, 2005.

ZIMMERMANN, M. H.; D. POTTER. Vessel-length distribution in branches, stem, and roots of *Acer rubrum* L. **IAWA**, v. 3, n. 2, p.103-109, 1982.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos é possível fazer as seguintes considerações:

O trabalho figura como pioneiro no entendimento da estrutura química e anatômica de regiões de nó da espécie estudada e permite vislumbrar a possibilidade futura de ampliar o conhecimento dos mecanismos que interagem para a resistência da madeira nas zonas de interface nó-madeira, permitindo calcular de forma mais precisa as forças atuantes nessas regiões, assim como outras estratégias para reduzir os prejuízos causados pela presença de nós em peças de madeira.

A dinâmica de desenvolvimento entre os elementos anatômicos da madeira livre de nó e madeira de nó apresentou padrões diferenciados. É possível conjecturar que tais características interfiram na resistência na madeira dessas regiões ao longo do tronco.

A estrutura da lignina entre as regiões de madeira livre de nó e a região de nó, apesar da proximidade entre as regiões mostrou-se diferente. Em pesquisas futuras, de manipulação genética, por exemplo, seria possível induzir a formação de lignina com estrutura molecular semelhante nessas regiões, o que permitiria aumentar a qualidade de peças de madeira.